



Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción Chile

Filial de la Société de Biologie de Paris

Publicación auspiciada por la Universidad de Concepción

DIRECTORIO:

PROF. DR. F. BEHN

PROF. DR. E. SOLERVICENS

PROF. DR. B. GÜNTHER

PROF. DR. G. GRANT

PROF. DR. G. HENCKEL

DR. R. MELO

REDACTOR DEL BOLETIN: PROF. DR. ERNESTO HERZOG

TOMO XXVIII

AÑO 1953

EDITADO EN DICIEMBRE DE 1953

SUMARIO

	Pág.
Goetsch, W.—El complejo vitamínico T y su importancia en la biología	3
Quijada, A. y Concha, J.—Potencial de demarcación en el sartorio aislado de "Calyptocephalus Gayi".....	23
Macchiavello, J., Concha, J. y Günther, B.—Incrementos de volumen y respuestas presoras en el sistema arterial.....	41
Günther, B. y Concha, J.—Un sencillo microrespirómetro volumétrico diferencial	55
Mena, E. y Concha, J.—Acomodación del músculo normal y denervado de rata. Acción de algunos anestésicos generales.....	63
Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L. y Abarca, B. F.—Factores que influyen en la acción analgésica de la morfina y derivados	73
Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L.—Factores que influyen en la acción analgésica de la morfina y derivados.....	83
Biel, F., Cabrera, M.—Acción del bantihina sobre la secreción y motilidad gástrica en enfermos con úlcera péptica.....	89
Schürmann, R.—Sobre micosis de muguet por tratamiento antibiótico.	99
Weber, K.—Las reticulosis y sus relaciones con las hemoblastosis...	107
Wilhelm, O.—La gallina araucana.....	119
Schwabe, G. H.—Algunas observaciones sobre el crecimiento de Pinus radiata Don. en Mininco.....	129
Schwabe, G. H.—Ensayos de abonadura con elementos menores.....	141

Bol. Soc. Biol. Concepción (Chile)



BOLETIN
DE LA
SOCIEDAD DE BIOLOGIA
DE
CONCEPCION

FILIAL DE LA SOCIETE DE BIOLOGIE DE PARIS

PUBLICACION AUSPICIADA POR LA UNIVERSIDAD
DE CONCEPCION



TOMO XXVIII

1953

CONCEPCION

El complejo vitamínico T y su importancia en la biología

por

Profesor Dr. W. Goetsch

Catedrático de la Universidad de Graz (Austria)

La sustancia activa, que tiene el nombre de "complejo T", fué descubierta de una manera empírica, sin poder al principio, concretar ni su estructura química, ni su composición exacta.

A la primera publicación sobre el descubrimiento del complejo T habían precedido investigaciones y observaciones en la naturaleza durante un tiempo muy prolongado (Literatura 21, 26, 27). Una de mis especialidades son las investigaciones sobre las hormigas y las termitas, vulgarmente conocidas bajo el nombre "hormigas blancas". Las primeras observaciones sobre estos insectos fueron hechas en España, en las islas Baleares (año 1926), con las especies de termitas: *Calotermes flavicollis* y *Reticulitermes lucifugus*. Otras especies con las cuales he hecho experiencias, son del género: *Calotermes* del Perú y de Chile, *Eutermes* del Perú, *Termes* de la India y *Anoplotermes* del Brasil y de la Argentina (en los años 1929/31 y 1937/38).

Las hormigas pertenecen a los géneros: *Messor* y *Pheidole* (España, Italia), *Solenopsis*, *Pogonomyrmex* (Chile) y *Pheidole*, *Acromyrmex* y *Atta* (Argentina).

En estas especies mencionadas existen en los hormigueros solamente pocos individuos sexuados; la mayoría son individuos asexuados. Algunos de ellos tienen una cabeza grande y mandíbulas enormes. Estos son los llamados "soldados". Otros tienen una cabeza mucho más pequeñas, llamados "obreros" o "trabajadores". Todos estos tipos, los obreros y los soldados de los termites, pueden ser del sexo masculino o femenino, es decir, existen en los hormigueros mencionados machos y hembras del tipo "soldados"; en las hormigas los obreros y soldados pertenecen siempre al sexo femenino.

De acuerdo con la antigua manera de interpretar los hechos biológicos, se suponía, que los huevos de los insectos sociales, que exteriormente parecen semejantes, tal vez encierran **disposiciones hereditarias** diferentes, a las cuales se debe la ulterior aparición de diferentes formas del insecto, es decir "soldados" u "obreros".

Sin embargo se sabía ya, que la **alimentación** juega un cierto papel en estos casos. Efectivamente las investigaciones y experimentos hechos en España, en Italia y en América del Sur, demostraron claramente que una condición para el nacimiento de los soldados era el abundante suministro de alimentos, especialmente albúmina, a las larvas. Pero esto sólo no es suficiente. Como segunda condición encontré la necesidad de suministrar dichos alimentos, es decir albúmina, a las larvas en estados determinados del desarrollo, los llamados "**períodos sensibles**". Durante estas fases el organismo de la larva es, por decirlo así, especialmente sensible a las acciones de los factores exteriores.

Pero el suministro abundante de alimentos en las épocas de los períodos sensibles tampoco resultaba suficiente para determinar en las larvas su desarrollo, en el sentido de transformarlas en soldados. Encontré un tercer factor necesario, que extraje al principio de los mismos termitas o insectos de tipo semejante y lo llamé por ello "Termitina". El preparado termitina es el precursor del "Complejo T". Con esta termitina he hecho experimentos con los mencionados géneros *Calotermes* y *Reticulitermes*, además con hormigas del género *Messor*, *Pheidole* y *Acromyrmex*. En todos los casos se desarrollaron soldados bajo la influencia de la termitina. Pude obtener experimentalmente también soldados del género *Anoplotermes*, los cuales en la naturaleza **no** tienen guerreros. Eran soldados por eso, que vivían solamente en el laboratorio.

Es de advertir que estos fenómenos, es decir la transformación de las cabezas, no sucede en vertebrados, ni en los pájaros, ni en los mamíferos, tratados con termitina o preparados semejantes.

En estos animales existe, como se sabe, como regulador del desarrollo el **sistema hormonal**, que falta casi completamente en los insectos.

Los resultados obtenidos con preparados como termitina y semejantes, son más importantes para el desarrollo de diversos animales, como los que se obtienen con cualquier otra vitamina. No es posible, por ejemplo transformar obreros de los termitas en soldados mediante las vitaminas clásicas. De ahí la denominación de "**Gran-Modificación**" para estos fenómenos y el nombre "Supravitamina" para las sustancias activas que las producen.

La sustancia T, sacada principalmente de los termitas, fué reconocida pronto como una sustancia vegetal; las plantas que las proporcionan en cantidades abundantes, pertenecen a especies **sin** clorofila; son hongos inferiores como las especies: *Hypomyces*, que vive también en los nidos de hormigas sudamericanas, *Penicillium*, muy conocido en la medicina moder-

na, *Mucor* y otras. Además unas razas de levaduras como *Saccharomyces* y *Torulopsis (Torula) utilis*; de ahí la denominación "Torutilina".

Pero es de advertir una cosa muy curiosa: Hormigas sud-americanas y ciertos termites crían representantes de mohos en sus nidos, de una manera, que los laboratorios modernos pueden envidiar con motivo a estos insectos. También en los tubos digestivos de estos insectos, o en los órganos de excreción de otros, viven representantes de esos organismos inferiores, viviendo en simbiosis. En estas condiciones proporcionan ellos constantemente al organismo las vitaminas y los aminoácidos y también el factor "T".

La consecuencia de estos resultados, obtenidos en muchos ensayos míos y de mis colaboradores, es la siguiente: Se puede obtener el complejo T no solamente de los cuerpos de insectos, especialmente de los termites, sino también de los mismos organismos inferiores. Para los preparados comerciales se necesita exclusivamente las levaduras.

Ya en las primeras publicaciones indiqué, que el descubrimiento del complejo T adquiriría probablemente importancia para los animales domésticos y para la salud del hombre. Los años subsiguientes han confirmado esta suposición en un grado, que supera en mucho todas mis esperanzas. No pueden enumerarse aquí, todos los hombres de ciencia, que se han esforzado para encontrar nuevas aplicaciones del complejo T. Quisiera enumerar solamente las publicaciones y ensayos hechos en los últimos tiempos.

I. En primer lugar se trata de investigaciones de tipo bioquímico.

Las sustancias activadoras fueron puestas de relieve por el famoso Profesor **Weygand** de la Universidad de Heidelberg (1950) y sus colaboradores. El mismo demostró en ella la existencia de vitamina B₁₂ activa, considerada desde entonces no sólo como antianémica, sino como un factor de crecimiento. Pero todos los experimentos hechos con animales inferiores no tienen efecto con esta vitamina B₁₂.

Los componentes esenciales de los preparados del complejo T son, según **Weygand** entre otros:

Desoxi-ribosa. Es el primer eslabón del ácido timonucleico, componente básico del cromosoma y germen celular. Los preparados de T son muy ricos en este cuerpo y su importancia se comprende rápidamente. En la división celular por mitosis aparece desoxi-ribosa engendrada por el fenómeno de división nuclear. "Es así, pues, necesario para los tejidos de rápida división celular y también para las células nerviosas, que en el plasma contienen este mismo cuerpo". (**Herrero Cachan** 1952).

Además encontró **Weygand** unos factores que son característicos para el crecimiento de unas bacterias. El análisis se realizó con papel cromatográfico y un método de la absorción en el ultravioleta. Un factor que pudo ser demostrado, fué una

substancia necesaria para el crecimiento del *Leuconostoc Citrovorum*. Se cree que es un semejante al ácido fólico, pero ahora se supone que está compuesto de varios componentes. El ácido fólico también se encontró en los preparados T. Es conocida la importancia de esta combinación de Pteridina, ácido paraaminobenzoico y ácido glutamínico para el metabolismo; sólo se ha mencionado que el ácido fólico juega un papel en la formación de los componentes del ácido nucleínico, la purina y la timina.

Un factor de crecimiento poco esclarecido respondió al test, efectuado mediante una cepa determinada de *Lactobacillus helveticus*. No es idéntico a ninguno de los factores conocidos y sobre su naturaleza química no se sabe nada.

En los últimos tiempos han aparecido una serie de trabajos sobre el complejo "T", que han arrojado más luz sobre la acción de este biocatalizador.

I. En primer lugar se trata de **investigaciones de tipo bioquímico**. En la Clínica Pediátrica Universitaria de Würzburg se ensayaron, por métodos de cromatografía con papel, los preparados comerciales de "Vitamina T", así como el extracto concentrado del mismo, por **Grunhofer y Schöberl** (34).

La distinción de las manchas, se realizó de la forma acostumbrada (cf. **Cosden, R.** (11), **A. H. Gordon y A. J. P. Martin** (10), **Cosden, R. y A. H. Gordon** (11); **Dent, C. E.** (12); **Dent, C. E. y G. A. Rose** (13); **Dent, C. E. y J. A. Schilling** (14); **Fanconi, G. y H. Bickel** (15)). Por medio de los métodos indicados por los precedentes autores y modificándolos en parte, se encontraron constantemente 8 manchas positivas a la ninhidrina, que por medio de ensayos comparativos, se pudieron identificar con los aminoácidos asparagínico, glutamínico, glicocola y alanina. La presencia de arginina es probable, según observaciones de **Weygand** y colaborados (66, 67), así como otras substancias que nos quedan aún desconocidas. Además se realizaron (**Grunhofer y Schobert**) determinaciones de nitrógeno según **Kjeldhal**, y de nitrógeno amínico según **Pope y Stevens**. [véase **Grunhofer y Schöberl** (34)].

Estas investigaciones proporcionaron los resultados siguientes: El extracto puro del complejo T, (del que existen distintos preparados: gotas, ampollas, pomada), contiene 28, 47 mg. de N por cada cc.; de este contenido corresponden 17,86 mg. al N amínico. El preparado en forma de gotas "Vitamina T" **Goetsch** contiene 10,15 mg. de N, del cual corresponden 7,72 mg. al N amínico. La diferencia entre el contenido de N total y el N amínico se debe repartir entre substancias nitrogenadas que no forman ningún complejo soluble con el ión cobre según las condiciones del método de **Pope y Stevens**. Por precipitación con ácido tricloroacético los valores del N amínico disminuyen algo, y por hidrólisis con ClH esta disminución no se produce, al contrario, se produce un ligero aumento con respecto de la

substancia no hidrolizada. De este hecho, los autores concluyen en la existencia de un compuesto nitrogenado de elevado peso molecular.

II. Bacteriología.

De tipo microbiológico son las investigaciones de **Gram** y **Schlipkoeter** (32), que con fin de estimular el crecimiento de leptospiras de desarrollo difícil y poder disponer con ello de antígenos de buena calidad para fines diagnósticos, emplearon la adición del preparado T en medio de cultivos. Con un contenido de 0,1% de preparado T, se determinó un aumento de 274% sobre los gérmenes testigo.

El aumento de crecimiento se producía a 0,1%, es decir, a la dilución que empleamos también en nuestros ensayos con renacuajos y levadura, y que se hacía manifiesto con la primera inoculación. En el transcurso de 4-5 inoculaciones el valor inicial se alcanzaba de nuevo. Una solución al 1% poseía una acción inhibidora.

Una acción especial de los preparados de Vitamina T **Goetsch** la pudo determinar **Schlipkoeter** y **Gram**: las alteraciones morfológicas que se producen por el envejecimiento de los cultivos al cabo de 4 semanas, no aparecieron con el empleo "T". Los cultivos de 4 semanas tratados con "T" mostraron al microscopio electrónico, el aspecto morfológico de cultivos normales de 6 días. Es de destacar este hecho, que explicaría la vitalización que produce en los organismos la Vitamina T; sobre este particular se insistirá más adelante.

Estos resultados, que fueron calificados de sorprendentes por los propios autores, les movieron a ensayar el efecto que producen aisladamente los diversos aminoácidos y vitaminas existentes en los preparados de T. Ninguno de los 14 aminoácidos existentes produce un aumento del crecimiento, y tampoco otros 8 aminoácidos que no se hallan en el complejo T. Fueron inactivos también la vitamina B₂, B₆, ácido fólico, ácido p-aminobenzoico; otras se mostraron más o menos activas como la B₁, cocarboxilasa, nicotinamida, biotinánfacin, pantenol, B₁₂, inosita, ácido folínico y critina. La mejor combinación con actividad de crecimiento en las leptospiras se obtenía con una mezcla de Vitamina B₁, con cocarboxilasa y con adición de niacina y nicotinamida.

Las leptospiras se cultivaron en el medio de **Korthof**, con adición de suero; si se añade preparado T, se puede disminuir el contenido de suero en el medio hasta 3%, sin que se acuse una disminución del crecimiento. Se demuestra por lo tanto, al igual que en el caso anterior, que por adición de T se produce crecimiento aún con escasa cantidad de albúmina. Con la eliminación total del suero en el medio de cultivo, el crecimiento se detuvo, tal como era de esperar, pues como escribe **Lohding** (48): "Sería exigir demasiado a una substancia que posee el carácter de activador, que desarrollase el papel de elemento nutritivo, y resultase un sucedáneo de proteína animal o vegetal". La acti-

yación que produce la vitamina B₁, que a todas luces ejerce una acción especial sobre las leptospiros, también actúa sobre el esperma de los erizos de mar, en los que provoca unos movimientos violentos. Sin embargo, tal acción había que distinguirla de otra capaz de provocar la longevidad y que, por lo mismo, recuerda el fenómeno de la conservación de la vida en los leptospiros, mencionado por **Gram** y **Schlipkoeter**. Los autores no dicen si esta acción conservadora tan prolongada del estado normal, hay que adjudicarla también a las combinaciones con B, o bien si hay que atribuirle exclusivamente al preparado T, hecho que cabría sospechar basándome en mis propios experimentos. Ahora bien, no hay que perder de vista el hecho de que no cabe generalizar los resultados obtenidos aplicables al metabolismo típico de los leptospiros que sólo pueden utilizar los aminoácidos, pero no los azúcares. Así **Schmager** (57) por ejemplo, sostiene también que en la mayor parte de las bacterias, una adición de sangre o de autolisados de levadura, se traduce en un crecimiento y multiplicación más activos, que los que produce una adición de preparados T. El factor T interviene en los procesos del **núcleo de la célula**, cuyo núcleo no existe en las bacterias.

III. Resultados biológicos con relación a la clínica.

Observaciones biológicas y clínicas encontramos reunidas en el interesante trabajo de **Lucas y Schmager** (49). Los preparados T, según testifican todas las pruebas microbiológicas, contienen también desoxirribósidos (21, 66, 67), junto a las vitaminas y factores del complejo B. Las materias activas constatadas son necesarias para la síntesis o para el metabolismo del ácido nucleínico. Además, dado que el núcleo de la célula es considerado como la seda de la formación de la albúmina, de acuerdo con las investigaciones de **Casperson** y sus colaboradores, un experimento acerca de las sustancias albuminoideas del plasma de sangre de los enfermos, llevado a cabo con auxilio de la electroforesis, pareció demostrar a **Lucas y Schmager** (49) una acción eventual de "T" sobre las sustancias albuminoideas de la sangre. Las investigaciones fueron llevadas a término, de acuerdo con los métodos indicados por **Grasman y Nannig**, determinando la proteína del suero, en intervalos de 8 días, durante un período experimental de 4 a 8 semanas. [Literatura véase **Lucas y Schmager** (49)].

Las personas que sirvieron de sujeto de experimentación (4 tuberculosos pulmonares y 5 no tuberculosos como término de comparación), recibieron 2 gotas, tres veces al día del preparado comercial. El resultado fué un retroceso en los valores leucocitarios un tanto elevados, junto a un aumento simultáneo del contenido de hemoglobina de la sangre. Los autores atribuyeron el fenómeno a la acción de T por cuanto ésta sólo se presentó en los sujetos tratados con T, con ausencia concomitante, en aquellos que no habían sido tratados con dicha vitamina. Además, en dos de entre 4 experimentos con suero, llevados a cabo mediante electroforesis, se pudo comprobar una mejora de

las proporciones entre albúmina y el suero. Se llegó a un aumento de la cantidad de albúmina y a un desplazamiento de las fracciones globulínicas en el sentido de su normalización.

En ningún momento se pudo observar pérdida alguna en la eficacia del T. La anorexia de los tuberculosos, que no ha sido eliminada con el empleo de dosis de ácido clorhídrico y pepsina u otros agentes estimulantes del apetito, pudo ser suprimida al utilizar T, observándose, al propio tiempo, una mejora correlativa del estado subjetivo del paciente.

Angelini y E. Pennati (2), llevaron a cabo **investigaciones hematoquímicas** en la Clínica Infantil de la Universidad de Milán. Para sus experimentos, sometieron a observación a 16 niños distróficos, que padecían, además, de impético, otitis, bronquitis, dispepsia, atrepsia y bronconeumonía, así como a 2 niños prematuros con un peso de 1500 a 1600 grs. En los niños pequeños con distrofia de 1,5 a 17 meses de edad, se notó, en observaciones previas llevadas a cabo entre las 3 y las 10 semanas, un estacionamiento o una disminución en el peso, que llegó hasta los 41 gramos por día. Después de un tratamiento con preparados T, el peso aumentó en 12 de los distróficos sometidos a él, alcanzando un incremento medio de 17,3 grs. por día. En los niños prematuros, el aumento fué, para uno de ellos de 21,1 gr. y para el otro de 7,8 gr., durante los 12 días que duró el tratamiento.

Los cambios hematoquímicos se hacen patentes observando las tablas al objeto. Partiendo del análisis de los valores que en éstas se reproducen, así como del de las curvas de peso, los autores llegan a la conclusión de que con los ensayos antes consignados, se ha puesto a prueba la actividad terapéutica de los preparados T.

Otros estudios clínicos muy exactos del Instituto de Puericultura de la Universidad de Strassburg presentan interesantes resultados. Los autores **Schneegans und Harscher** (1953) notaban aquí bajo la medicación de gotas "T" independientemente de todas las investigaciones hechas en otros tiempos — una influencia sobre la curva ponderal y el apetito en 50% de los casos.

Los trabajos franceses e italianos mencionados en este lugar confirman y completan en alto grado los resultados de los pediatras de Suiza, Austria, Alemania y España, como **Glanzmann** (19), **Ulrich** (25), **Bühl** (9), **Schmidt** (58), **Berger** (4), **Blatzheim** (5), **Nusbaumer** (51), **Pototschnig** (53-55), **Ramos, Torres Marty** (61-62), **Herrero Cachan** (36) y muchos otros que se citaron ya en otros resúmenes ²¹).

IV. En la **Clínica de Pediatría** de Barcelona, se han llevado a cabo nuevos experimentos con preparados de "Vitamina T **Goetsch**", que han sido reseñados en dos publicaciones. **Torres Marty y Ferrer Pi** (64), describen algunos casos de niños prematuros, llegando a las siguientes conclusiones:

1º—La vitamina T debe ocupar un lugar importante entre las medidas generales de tratamiento del niño prematuro.

2º—Con el empleo de esta vitamina, se consigue incrementar la lactancia materna de los prematuros, por aumento de su potencia de succión.

3º—La vitamina T acorta el tiempo de recuperación de la pérdida fisiológica de peso y mejora notablemente la curva de desarrollo ponderal del prematuro.

En los extensos “Estudios sobre la Vitamina T” —trabajo premiado por la Real Academia de Medicina de Barcelona— **Torres Marty y Vall Bañeres** (63), detallan la historia del descubrimiento del complejo vitamínico T y destacan su importancia, tanto para la clínica interna, como para la dermatología. Una multitud de tablas, curvas y gráficos, respaldan sus exposiciones, así como la descripción de algunos casos que, con preferencia, se refieren a lactantes.

Pero **Torres Marty, Vall Bañeres** y otro gran número de médicos españoles y portugueses, como **Aguiar** (1), han procedido a prescribir también el medicamento llamado “Tegotina” o “Tegotón” —nombres actuales de los preparados T, para la Península Ibérica y para América del Sur— no sólo a los lactantes, sino también a los **niños pequeños y a los escolares**.

V. Niños mayores y adultos.

Las investigaciones del Dr. **Mühlhausen** (50), (Médico-Director del Instituto para niños, del Convento de “María Auxiliadora” **Gangelt, Aquisgrán**), son merecedoras de especial mención. Los resultados de los experimentos llevados a cabo, con máxima atención, se refieren a 34 niñas de 4 a 16 años de edad, cuya escasez de cuidados tuvo como consecuencia una debilidad mental. A pesar de estar sometidas a un régimen alimenticio excelente, tanto en la cantidad como en la calidad, casi todas ellas tenían un peso y un desarrollo inferior al que correspondía a su edad. Se atribuyó un valor especial al hecho de que las jóvenes situadas dentro de los límites de edad antes citados, pertenecieran a todos los grados de la misma, de suerte que cabía excluir cualquier desarrollo condicionado por una fase fortuita y que pudiera presentarse con independencia de la administración de la vitamina T.

En primer lugar se pudo comprobar el desarrollo corporal en el sentido de un aumento de peso, en el período comprendido entre 1-8-1950 y 1-8-1951.

A partir de 1-8-1951, se les suministró a las pupilas el preparado de vitamina T **Goetsch**, en gotas, en las dosis normales, iguales para todos los sujetos de experimento.

Después de estas observaciones 23 de las pupilas (=66%) aumentaron su peso más, y parte de ellas notablemente más, que en los 12 meses anteriores. En el grupo de edad comprendido entre los 4 y los 10 años, el aumento se elevó normalmente al 160%, mientras que en el comprendido entre los 10 y los 16 años, llegó incluso hasta el 240%. Cabe sospechar que este he-

cho se deba a la excelente disposición de las jóvenes en la época de la pubertad, puesto que también en otros casos, dicha época se ha manifestado como período especialmente sensible a la acción del T. Ejemplos de dichos casos los ofrecen aves, ratones (37), peces (17), Hamster (19a) e insectos (22, 25-27).

Dr. E. Koch (44) investigó niños que presentaban trastornos en el metabolismo de las albúminas. En un 50% de los casos logró un aumento de peso y tamaño con la medicación de la Vitamina "T" en gotas. Al mismo tiempo acentuó —con razón— que no todos los trastornos del crecimiento se dejan influir por el complejo "T". Para la comprensión del efecto de la vitamina "T" es muy interesante subrayar de nuevo que este complejo ha mostrado en el hombre así como en los ensayos con animales influencias del metabolismo, y especialmente en el de las albúminas.

VI. Tuberculosis.

Resultados parecidos se han podido comprobar igualmente en los adultos, tal como lo demuestran los trabajos de **Chiesura y Petrides** (16), que en la Clínica Médica de la Academia de Medicina de Duesseldorf, trataron con preparados "T" 100 casos (92 adultos y 8 niños), algunos de ellos con inapetencia, falta de peso, estados de agotamiento, anemias de grado diverso, convalecencia retardada y caquexias tumorales.

De los 8 niños de 4 a 5 años, los que padecían tuberculosis miliar, pulmonar o miliar, mostraron un aumento satisfactorio, e incluso un aumento muy acentuado del apetito. Las curvas de peso subieron, después de haber permanecido invariables durante varias semanas.

De los 92 casos de **adultos** tratados con preparados T, aquejados casi todos de grave inapetencia de diverso origen, 27 de ellos presentaron un aumento muy satisfactorio del apetito, 21 un aumento notable del mismo, y 17 un aumento regular. Un tercio de la mayoría de los enfermos con déficit de peso, reaccionaron con un aumento del mismo de hasta 8 kgs.; el incremento promedio de peso fué de 3 kgs., en tanto que, anteriormente, las curvas de peso habían permanecido invariables e incluso habían mostrado una tendencia al descenso. "La acción más sorprendente del preparado pudo observarse en 2 pacientes de policitemia correlativa a una insuficiencia poliglandular. En estos casos los aumentos de peso llegaron a 6 kgs., acompañándose de una franca mejora del estado subjetivo". [**Chiesura y Petrides** (16)].

Se ha hecho notar anteriormente (22), que los preparados de T **no** constituyen una **medicación específica para la tuberculosis**. Pero, sin duda alguna, pueden mejorar el estado del enfermo al estimular el apetito y producir, con ello, el subsiguiente aumento de peso, como lo han demostrado tanto los trabajos

efectuados por **Lucas y Schmager**, como los llevados a cabo por **Chiesura y Petrides. Schaich** (56a), a su vez, ha consignado, en un informe, hechos semejantes. Recientemente (1953), **Rietzschel** (50), en el Hospital de Tuberculosos del Estado, en Gauting (Munich), llevó a cabo investigaciones sobre la acción de los preparados de T en enfermos pulmonares que, con anterioridad, habían sido tratados con isoniácida (INH) y antibióticos. Sabido es que lo que caracteriza a estos procedimientos es una acción bacteriológica específica en los tuberculosos, junto a un efecto tónico y corroborante de tipo general, que se manifiesta mediante la formación de antituberculinas, aumento de peso y mejora del estado general del paciente. Sin embargo, ha quedado demostrado que estos efectos del INH se extinguen después de períodos de tiempo variables. Junto a la resistencia a las bacterias, se presenta una interrupción de la curva de peso e incluso, en muchos casos, un retroceso en forma de pérdida de peso acompañada de nueva anorexia. Tal ocurrió con 24 pacientes, en los que junto a la anorexia, situada en un primer plano antes del tratamiento por T, se pudo comprobar una falta de peso durante períodos más largos de tiempo o bien un descenso en las curvas de peso. Mientras duró la administración de T, se interrumpió todo tratamiento antibiótico a fin de eliminar causas extrañas, que pudieran provocar una alteración del estado general.

Entre los pacientes estaban representadas todas las formas de tuberculosis pulmonar, preponderando, por cierto, los casos avanzados, abiertos y bilaterales, con empiema pleural o después de tratamiento quirúrgico, y subsiguiente ausencia de los resultados que eran de esperar. La edad de los enfermos oscilaba entre los 25 y 60 años, con un promedio por bajo de los 35 años. Los preparados de T administrados en la forma acostumbrada, produjeron resultados óptimos. Llamó la atención el hecho de que, en casi todos los casos en que se manifestó una notable mejora en el apetito, hasta alcanzar el gusto por la comida ya expresado, ofrecieron además un incremento máximo de 4 y 5 kgs. al cabo de 12 semanas, se presentaron claros indicios de efecto, ya en las dos primeras semanas, si bien, en general, cabe afirmar que un período de tratamiento de 4 semanas, no es suficiente para alcanzar resultados decisivos. Hasta ahora la existencia de síntomas de extinción de la eficacia de la vitamina T, no se ha comprobado hasta pasados 3 meses.

Durante el tratamiento con vitamina T, **Rietzschel** (56) observó en uno de cada dos pacientes, un cambio en la formación de la materia blanca de la sangre en el sentido de una reacción linfocitaria de fase curativa y una mejora sorprendente de la velocidad de sedimentación globular, que con anterioridad se había mantenido muy alta.

De entre los 24 enfermos de tuberculosis, mediante los preparados T, se pudo obtener en 17, un aumento satisfactorio y

decisivo del apetito, consiguiendo, por otra parte, en 10 enfermos un incremento de peso sostenido de 1,5 a 5 kgs., después de que, con anterioridad, medicamentos específicamente activos y otros corroborantes, no había podido lograr cambios estables.

Es creencia del autor, que los actuales preparados T, contienen corroborantes mediante los cuales pueden ser cercenadas y vencidas las fases de agotamiento subsiguientes al tratamiento de INH, de suerte que, por ejemplo, una mejora del estado general puede poner al paciente en disposición orgánica adecuada para resistir una operación quirúrgica necesaria, cuando a causa de dicho mal estado general, no puede correrse este riesgo. Así pues, las grandes conquistas de la quimioterapia y la cirugía de pecho, reciben un complemento valiosísimo y a menudo necesario, mediante un tratamiento general de los tuberculosos.

VII. Desde hace algunos años se conoce la eficacia de los preparados T para provocar un aumento de la **resistencia orgánica a las influencias nocivas**. Kupka y Gubles (45, 46) realizaron experimentos con ratas y cobayas acerca de la acción de "T" sobre intoxicaciones de estricnina y "Shocks" de histamina, mis colaboradores en Barcelona sobre la influencia de alcohol en ratones. Gieschen experimentó sobre el aumento en las resistencias de corderos argentinos frente a los vermífugos. Pototschnig (53-55) ha publicado un caso relativo a un niño intoxicado con *Oleum chenopodium*, que pudo ser curado con preparados "T" después de haber fracasado con las restantes medicaciones.

A fin de obtener mayor cantidad de datos exactos, realizamos en Nápoles ensayos con erizos del mar (Tabla I) y en Barcelona experimentos con larvas *Drosophila melanogaster*, que, normalmente, con una alimentación sintética se desarrollan entre 10 y 15 días. Dicha alimentación sintética contiene, además de glucosa, los aminoácidos necesarios y de las sales indispensables, las vitaminas C, B₁, B₂, B₆, B₁₂, incluyendo la Biotina y los ácidos nicotínico, pantoténico y fólico (Tabla I). Mediante adición de unas gotas del preparado "T", el desarrollo de las larvas se efectúa por completo entre 7 y 8 días (Tabla II). Los auténticos preparados "T" son los únicos que demuestran, en este caso, su aptitud para actualizar las capacidades biológicas, hecho que ilustran igualmente los siguientes experimentos:

T A B L A I

Erizos del mar, (PSAMMECHINNS microtuberculatus).
Influencia sobre la esperma. Experimentos hechos en la
Estación Zoológica de Nápoles, 1950/51.

Adiciones (Soluciones cuando no están indicadas = 0,3 — 0,5%)		Influencia sobre los espermatozoides.
1) Controles I (sin adición).....		Actuación normal, el movimiento cesa totalmente de las 24 a 36 horas má- ximo.
2) " II " "		
3) " III " "		
4) Alamin a 0,3 — 0,5%.....		como los controles muertos a las 24 horas.
5) Alamin b 0,3 — 0,5%.....		
6) Arginin 0,3 — 0,5%.....		
7) Asparagin		algo mejor que los controles; frecuen- temente no mueren hasta las 39 horas.
8) Acido aspar.		
9) Cystin 0,3 — 0,5%.....		dañados con soluciones más fuertes (0,8%).
10) Glutamin 0,2 — 0,8%.....		
11) Glycin 0,3 — 0,5%.....		como los controles.
12) Histamin 0,2 — 0,5%.....		
13) Leucin 0,2 — 0,5%.....		
14) Methionin 0,2 — 0,5%.....		pequeños aumentos.
15) Valin 0,3 — 0,5%.....		como los controles.
16) Vitam. B ₁ Merck 0,2 — 0,5%.....		Acción especial. Al principio movi- mientos "torbellinosos", más fuerte de todos; luego descanso. El movimiento cesa en el mismo tiempo que los controles.
16a) Vitam. B ₁ Bayer 0,2 — 0,5%.....		
16b) Vitam. B ₁ Nápoles 0,2 — 0,5%.....		
17) Acido pantoténico (B ₃).....		como los controles; el movimiento ce- sa de las 24 a 36 horas.
18) Vitam. B ₆ (Adermin).....		
19) Acido p. aminobenzóico.....		
20) Acido fólico.....		
21) Vitamina B ₁₂		
22) Penicillium		Aumento hasta las 96 horas.
23) Penicin I.....		El mayor aumento de la duración de la vida hasta 72, 87 y 120 horas.
24) Penicin II.....		
25) Penicin III (1951).....		
26) Termitina Nápoles.....		Fuerte aumento de la duración de la vida hasta 60 horas.
27) Termitina Perú.....		
28) Termitina Argentina (1951).....		
29) Inyectable con I.....		Aumento hasta las 60 horas.
30) Prep. I ₂ Standard 1950.....		Aumento de la duración de la vida hasta 54 y 72 horas.
31) Prep. I ₂ Standard 1951.....		

Las larvas de *Drosophila*, normalmente alimentadas, pueden soportar baños de alcohol a concentraciones del 30 al 40%, durante tres horas. Con un tratamiento anterior o posterior con "T", se restablecieron del 61 al 89%, frente al 40% de tan sólo los testigos. Los renacuajos del sapo *Pelobates fuscus*, se quedan inmóviles a los 10 minutos de ser sometidos a un baño de una dilución alcohólica al 10%, reanimándose luego paulatinamente al ser sumergidos en agua fresca. Este efecto se consigue mucho más rápidamente mediante un tratamiento con "T". Las diferencias de los tiempos de recobramiento alcanzan el 60%. Tanto los sapos como las larvas de *Drosophila* afectados de narcosis con éter (60%) se restablecen igualmente de ésta mucho antes con tratamiento con "T", y también los renacuajos tratados con Cumarina (22), que se demuestra para ellos muy nocivo.

VIII. Depósitos de "T" en los tejidos.

En experimentos con erizos de mar (*Arbacia pustulosa*) cabe demostrar un aumento de vitalidad en los espermatozoides (23).

T A B L A II

Ensayos verificados con *Drosophila melanogaster*

Desarrollo de larvas hasta crisálidas (P) e imagines (IM).
Prep. crianza con pedazos de Id. con papel de filtro impregnado con los alimentos citados en el texto.
 manzanas, con vitaminas y levadura.

Testigos: P de 9 a 10 días, P de 9 a 10 días, IM de 13 a 15.
 (controles) IM de 13 a 15 días.

Prep. sin "T" P. 10 días, P 10 días, IM 15 días.
 (imitaciones) IM de 15 días.

Prep. con "T" P de 3½ a P de 3½ a 5½ días, IM de 7 a 8.
 5½ días.

Goetsch. IM de 7 a
 (auténtico) 8 días.

Comparando con ensayos realizados al mismo tiempo y llevados a cabo con renacuajos y levaduras, mantenidos con la misma alimentación sintética, el coeficiente de acción ofrece los siguientes resultados:

	Levadura	Renacuajos	<i>Drosoph.</i>	Sa
Testigos (Controles)	0	0	0	0
Prep. sin "T"	1	-1	0	0
Prep. con "T" Goetsch	19	19	6-19	52-44

El factor "T", de acuerdo con ensayos verificados, se almacena en los órganos sexuales de estos animales. De los testículos de la *Arbacia*, tratados previamente con inyecciones de "T", se obtiene este factor vitamínico en cantidades apreciables (Tabl. III y IV), en tanto que los testículos sin inyecciones pre-

vias presentan cantidades ínfimas del mismo (Tabl. III y IV). En los renacuajos el "T" se almacena especialmente en el hígado y en el tejido conjuntivo. De ahí que los efectos del "T" subsistan de 2 a 3 días después del tratamiento con el complejo vitamínico (25).

Erizo de mar (*Arbacia pustulosa*)

Bajo los efectos de inyecciones de preparados con Factor "T", los erizos de mar ponen huevos o eyaculan espermatozoides entre los 15 y 30 minutos después de la aplicación.

T A B L A III

Erizo de mar (*Arbacia pustulosa*). Inyecciones con preparados de T. (Estación Zoológica, Nápoles 1951 y Barcelona 1952)

Los machos y las hembras ponen sus huevos y sus espermatozoides bajo la influencia de inyecciones de preparados que contienen el factor T. Otras inyecciones no tienen efectos.

Los animales recibieron inyecciones con 0,25 — 0,50 ccm. agua del mar, los controles sin administración de otras sustancias.

T₂, T₂68, T₂81, Amp. Cheph. = Preparados que contienen el factor T; además Penicina, Termitina, Si P₁, Si P₂.

W. E. = Unidades biológicas del Factor T.

CULTIVOS	Machos	Hembras	Resultados
1) Controles I	19	22	—
2) Controles II	10	10	—
3) Vitam. B ₁ 0,2 — 0,5 mg.	8	9	—
3a) Como 3, con T ₂ 50 W. E.	3	3	positivo
4) Vitam. B ₂ , diversas concentraciones	4	6	—
4a) Como 4, con T ₂ 50 W. E.	1	1	positivo
5) Acido pantoten., diversas concentrac.	5	5	—
5a) Como 5, con T ₂ 50 W. E.	2	2	positivo
6) Acido fólico, div. concentraciones	6	6	—
7) B ₂ , B ₃ , ácido fólico, Asparagina	6	5	—
8) B ₁ , B ₂ , ácido fólico, Asparagina	10	6	—
8a) Como 8, con T ₂ 50 W. E.	5	3	positivo
10/13 Vitam. B ₁₂ 0,05 ccm. — 2,5 gamma	7	9	—
10a) Como 11, con Penicina (0,1 mg.)	1	1	positivo
14) Vitam. C 0,05 mg.	3	3	—
14a) Como 14, con T ₂ W. E.	1	1	positivo
15) "Vitam. F." 0,1 ccm.	5	3	—
16) "Testoviron 5 mg.	3	1	—
17) Preloban 5 — 10 unidades	3	5	—
18) Amp. Cheph. 50 W. E.	4	2	positivo
19) T ₂ 68 25 — 50 W. E.	6	2	positivo
20) T ₂ 81 25 — 50 W. E.	15	7	positivo
21) Si 1, Si 21, 25 — 50 W. E.	4	2	positivo
22) Termitina	1	3	positivo
Sa	132	117	

Experimentos semejantes con *Psammecinus microtuberulatus* (44 machos, 41 hembras) y *Paracentrotus lividus* (21 machos, 28 hembras) tenían los mismos resultados: Las vitaminas B₁ y las del complejo B₂ solas o en combinaciones no producen una puesta de los productos sexuales.

La puesta de huevos y eyaculación de espermatozoides puede provocarse asimismo, con preparados extraídos de testículos de animales, previamente inyectados con "T". Los preparados extraídos de testículos **sin** previo tratamiento, **no** producen estos efectos.

T A B L A IV

317 erizos de mar fueron tratados con inyecciones de 0,20 a 0,50 cm³ de agua de mar, con o sin adición de Preparados "T", obteniéndose los siguientes resultados:

	Números	Productos sexuales elaborados en %	
Grupo I. (controles), sólo con agua	68	6	} sin "T" 5%
II. Vitamina B ₁	29	7	
III. Complejo B ₂ B ₂ , B ₆ , B ₁₂ , ácido nicotínico, pantoténico, fólico, con o sin B ₁	62		
IV. Preparados procedentes de testículos sin tratar	18	17%	17"
V. Preparados de testículos tratados con "T"	12	75	75
VI. Preparados "T" procedentes de termitas o ascomicetos	30	96	} 97
VII. Preparados "T" procedentes de levaduras varias	98	98	

X. Regeneración.

La **regeneración** de la **piel** y la del **tejido conjuntivo** fué estudiada, en medida muy amplia, entre los temas clásicos de la investigación biológica, utilizando planarias y la cola del renacuajo. **Fleischhacker** (1953) (18a), en 100 planarias a las que había cortado, separándola, la mitad anterior del cuerpo, registró, junto a una mortalidad del 38%, una regeneración completa, llevada a término, sólo entre los días 11 y 22. En los animales experimentales, que fueron bañados diariamente durante media hora en una solución al 0,05% del T concentrado (1000 unidades biológicas), se produjo, con una mortalidad de sólo el 16%, una regeneración total entre los días 3 y 12. Lo mismo se puso de manifiesto en 8 series experimentales ulteriores efectuadas con 6-10 planarias cada una. En los animales tratados

con T, la regeneración completa duró, por término medio, 8,6 días y 11,9 días en los animales de los controles, con lo cual la diferencia se elevó, en este caso, al 30-33%, como cosa normal en los experimentos con animales tratados con T. En la regeneración de colas de renacuajo (*Rana*, *Pelobates*, etc.), y peces (*Lebistes reticulatus*) fueron distintas las diferencias entre las pruebas efectuadas con tratamiento de T y las realizadas sin éste. En la **Rana temporaria**, por ejemplo, el crecimiento medio de regeneración de animales bañados en una solución de T del 0,1% en el día 11, se elevó a 2,7 mm. y a 2,5 mm. en los animales testigo (controles). En el día 18 a 13,8 mm. y a 10,1 mm. en el lote testigo. En *Pelobates fuscus* se pueden observar fenómenos semejantes, también en renacuajos que entraron en metamorfosis.

En el *Lebistes* se dió el hecho particularmente interesante de que con un **tratamiento** profiláctico **previo** mediante preparados T, (baño diario), la regeneración se aceleró en un 16-33% aproximadamente.

Mediante una **alimentación** profiláctica con T, las diferencias podían elevarse hasta el 66% o más y lo mismo exactamente, al combinar la alimentación con T con el baño de T.

En la regeneración de los planarias, ranas y renacuajos, además de las células de la piel, participan, en primer lugar, todos los elementos celulares que forman parte del mesenquima y los fibroblastos e igualmente del sistema retículo-endotelial desde los vertebrados superiores hasta el hombre.

Baron (3) y **Knoth** (40) lograron poner de relieve estos hechos valiéndose de brillantes investigaciones experimentales. **Baron** (3) realizó experimentos con conejos a los que había practicado lesiones artificiales con máxima precisión, y comprobó, por tal procedimiento, que dichos animales se curaban normalmente mucho mejor con un tratamiento de T. **Knoth** (4) buscó los factores del propio fenómeno de la regeneración y demostró que los fibroblastos "in vitro" se reproducían con mayor rapidez, al adicionar determinadas concentraciones de T. Ensayos semejantes sobre el crecimiento de las células mismas, realizaron **Onsem** y **Gillard** (52).

Todos estos resultados explican el hecho de que también en el **tratamiento de T, vía externa**, es decir, en dermatología, se hayan obtenido espléndidos rendimientos para la terapéutica humana.

Lengsfeld (47a, 47b) trató a dos pacientes con **ulcus cruris** resistentes a los procedimientos terapéuticos. Durante los primeros 10 días del tratamiento, (2 veces por día, 10 gotas en la lesión), se acentuó intensamente la secreción traumática apareciendo después granulaciones nuevas y curándose el ulcus, pasadas 3 semanas. **Bonne** (Barcelona) describe 3 casos de úlceras persistentes durante largos años en las que, mediante aplicaciones externas de vitamina T, se formaron pronto nuevas granulaciones, con cicatrización definitiva entre los 14 días y 3 semanas. 2 veces al día se aplicaron a la úlcera 10 gotas de complejo T en substancia.

T A B L A V

Unidades de acción (W. E.) y unidades de coeficiente (W. K.)
del complejo T (según diversos autores)

Soluciones y unidades	Efectos en organismos, tejidos y células						
	I <i>Planarias</i> Regenerac. Goetsch Breslau 1944 Graz 1951	II <i>Hydra</i> Regenerac. <i>Meyer</i> 1950 Graz	III <i>Fibrobl.</i> aislados <i>Knoth</i> 1951 Giessen	IV <i>Esperma</i> Erizo de mar <i>Goetsch</i> 1949/50 Nápoles	V <i>Esporas</i> de helechos Onsem- <i>Gillard</i> 1951 Gent	VI <i>Rana</i> temp. movim. <i>Lazarus</i> 1950 Graz	VII <i>Rana</i> ágiles movim. <i>Goetsch</i> 1952 Barña
(W. E. en 100 ccm. H ₂ O)							
0,001% = 10 ⁻⁴ = 1/10 W. E.	pequeño	pequeño	optimal	bueno	bueno W. K. = 1,4	pequeño	pequeño
0,01% = 10 ⁻³ = 1 W. E.	bueno	bueno W. K. = 1,2 — 1,6	bueno	bueno	—	bueno W. K. = 1,3-1,6	bueno W. K. = 2,2-2,6
0,1% = 10 ⁻² = 10 W. E.	bueno	bueno W. K. = 2,6-3,0	bueno	bueno	—	bueno W. K. = 3,4	bueno W. K. = 2,8-3,0
1,0% = 10 ⁻¹ = 100 W. E.	ocasionalmente depresiones			?	—	ocasional- mente nocivo	
desde 2% (200 W. E.)	absolutamente nocivo			nocivo	—	absolutamente nocivo	

Se tiene que considerar en estos experimentos que los organismos mencionados no comen directamente las unidades, sino las absorben en cantidades mínimas por la superficie corporal.

En la regeneración de las Hydras y gusanos (*Planarias*, I II) y en el desarrollo de las esporas del helecho se nota muy marcadamente la influencia del factor T en las células, porque en estos casos la regeneración y el crecimiento coinciden con la división y multiplicación celular. El mismo efecto se puede apreciar en los tejidos aislados (*Fibroblastes*, III).

CONCLUSIONES

Los resultados biológicos, bioquímicos y clínicos recientemente obtenidos con el factor "T" y que acabamos de citar brevemente, son adecuados para poner de relieve lo que reiteradamente ha observado el conocido investigador en vitaminas, **Karrer** (39, 59), es a saber, que nuestros conocimientos sobre las vitaminas necesarias y sobre el metabolismo, son todavía

muy incompletas, pese a todos los progresos registrados en el dominio de la ciencia de la nutrición. Así pues, hasta el momento presente, y a pesar de todas las investigaciones y de todas las teorías, no existe ninguna dieta sintética que en los hombres o animales sujetos de experimentación, haya hecho posible, a través de varias generaciones, el crecimiento, desarrollo o la procreación. Es necesario seguir incorporando constantemente a todas las sutiles mezclas de materias nutritivas y vitaminas puras, factores, hasta ahora desconocidos, y que hasta el momento actual no se han podido obtener en estado de absoluta pureza partiendo de las levaduras, hongos y extractos orgánicos. Aquí se deben nombrar los “auxonas” en el sentido de **Kollath** (42), de los cuales el primero se presenta más y más en forma del Factor T (**Kollath** 43).

Este factor T no constituye solamente, como se cree algunas veces, una mezcla particularmente feliz de factores conocidos, que tal vez permite ya, por sí misma, efectos benéficos, sino que por el factor “T” se entiende, más bien, un **principio preordinado** que sigue agregándose a las vitaminas, hormonas y fermentos, por el intermedio de todos los restantes biocatalizadores y que evidencia una intervención activa de los procesos celulares y en particular en aquéllos que se desarrollan en el núcleo mismo.

BIBLIOGRAFIA

- 1) AGUIAR, L.—Clínica Contemporánea. Vol. VI. 4. Lisboa 1952.
- 2) ANGELINI, A. u. PENNATI, E.—Minerva Ped. IV, 24, Milán 1952.
- 3) BARON, H.—Aerzt. Forsch. 1950, 596.
- 4) BERGER, H.—Msschr. Kinderheilk. 1950, 433.
- 5) BLATZHEIM, R.—Med. Welt 1951, 685.
- 6) BOSCH-MARIN, J. y CARDONA-MATEO, L.—Terapéutica Clínica Infantil, II Ed. Madrid 1950.
- 7) BOETTCHER, W.—T-Vitamin-Goetsch. lh. Oppermann, Hannover Kirchrode 1951.
- 8) BOETTCHER, W. u. HEIDLER, H.—Die medizinische Welt Nr. 41, 1951.
- 9) BÜHL, H.—Münch. med. Wschr. 1950, 1130.
- 10) COSDEN, R., GORDON, A. H. and MARTIN, A. J. P.—Biochemic. J. 41, 590 (1947).
- 11) COSDEN, R. and GORDON, A. H.—Nature (Lond.) 162, 180 (1948).
- 12) DENT, C. E.—Biochemic. J. 43, 169 (1948).
- 13) DENT, C. E. and ROSE, G. A.—Biochemic. J. 44, 610 (1949).
- 14) DENT, C. E. and SCHILLING, J. A.—Biochemic. J. 44, 318 (1949).
- 15) FANCONI, G. u. BICKEL, H.—Helv. paediatr. Acta 4,359 (1949).

- 16) CHIESURA, E. u. PETRIDES, P.—Therapie der Gegenwart, 91. Jhrg. H. 12., Dez. 1952.
- 17) FISCHER, E. u. SIMMERSBACH, E.—Zeitschr. f. Naturforschung VI, H1, 1951.
- 18) FISCHER, Z.—Menschl. Vererb. u. Konstitutionslehre 31, 1952.
- 18a) FLEISCHHACKER, E.—Diss. Graz 1953.
- 19) GLANZMANN, E.—Helv. Med. Acta, Ser. D Vol. 5, 5 1950.
- 19a) GLEICHWEIT, E.—Z. Vit. Ho. Fe. 5, 44, 1953.
- 20) GOETSCH, W.—"Eos". Rev. Española de Entomología. Madrid XVIII 1942, y 1953/54 (en imprenta).
- 21) GOETSCH, W.—Oesterr. Zoolog. Zeitschr. III, Viena 1951. (Bibliografía completa hasta 1951).
- 22) GOETSCH, W.—Medicina Clínica Barcelona X. Nº 2. 1952. (Bibliografía completa hasta 1952).
- 23) GOETSCH, W.—Pubbl. Staz. Zool. Napoli 1950.
- 24) GOETSCH, W.—Vi/Ho/Fe. IV, H. 3/4, 1951.
- 25) GOETSCH, W.—Ztschr. Vi/Ho/Fe. 1953 (en imprenta).
- 26) GOETSCH, W.—Staaten der Ameisen. Springer Verl. Heidelberg 1953.
- 27) GOETSCH, W.—Vergl. Biologie der Insekten-Staaten. Akad. Verlags-Ges.-Leipzig 1953 (en imprenta).
- 28) GOETSCH, W. u. BOETTCHE, W.—Oesterr. Apotheker Zeitung 18, 1950.
- 29) GOETSCH, W. u. MEYER, P.—Oesterr. Zool. Zeitschr. II 1950.
- 30) GOETSCH, W. u. NUHSBAUMER, G.—Aerzl. Pra. 2, Nr. 10, 1950.
- 31) GOETSCH, W.—Soc. Catalana de Pediatria. Acta Pediátrica Española 1952.
- 32) GRAM, H. G. u. SCHLIPKÖTER, H. W.—Aerztl. Forschg. VII. Jg. H. 3, 1953.
- 33) GRIMM, H.—Biol. Zentralbl. 70, 7/8, 1951.
- 34) GRUNHOFER, H. u. SCHÖBERL, A.—Klin. Wschr. Jg. 29, H. 21/22, 1951.
- 35) HARZHEIM, I.—Dtsch. med. Wschr. 1951, 1019.
- 36) HERRERO-CACHÁN, J. A.—Medicamento X, 13. Madrid 1952.
- 37) HEYN, G.—Ztschr. Vi/Ho/Fe. IV, 2, 1951.
- 38) KÄDING, A.—Diss. Rostock 1937.
- 39) KARRER, P.—zit. nach Stepp, W.: Med. Klinik 1950, 573.
- 40) KNOTH, W.—Münch. med. Wschr. 1951, 2326.
- 41) KOCH, A., OFFHAUS, K., SCHWARZ, I. und BANDIER, J.—Naturwiss. 37, 313 (1950).
- 42) KOLLATH, W.—Der Vollwert der Nahrung. Stuttgart 1950.

- 43) KOLLATH, W.—Heilkunst. 66. H. 3, 1953.
- 44) KOCH, E.—1953 (en imprenta).
- 45) KUPKA, E.—Ztschr. Vi/Ho/Fe . II, 3, 1948/49.
- 46) KUPKA, E. u. GUBLER, H.—Ztschr. Vi/Ho/Fe. II, 5/6, 1948/49.
- 47) LECLERCQ, I.—Arch. int. Physiol. 57, 3 (1950).
- 47a) LENGSELD, W.—Münch. med. Wschr. 1951; 1662.
- 47b) LENGSELD, W.—Arch. Kinderheilk. 143, He. 1 (1951).
- 48) LOHDING, M.—Aerztl. Wschr. H. 42, 1950.
- 49) LUCAS, E. u. SCHMAGER, A.—Aerztl. Wschr. 8. Jg. H. 15, 1953.
- 50) MÜHLHAUSEN.—Wschr. Kinderheilk. 1952.
- 51) NUHSEBAUMER, G.—Wiener Medizin. Wochenschrift 101, 24/25, 1951.
- 52) ONSEM, I. G. VAN u. GILLARD, A.—Med. Landbouwhogeschool de Opzocking-stations van de Staat, Gent XVI, 1, 1951.
- 53) POTOTSCHNIG, H.—Mediz. Klinik 46, Nr. 37, 1951.
- 54) POTOTSCHNIG, H.—Die Medizinische, Nr. 13, 1952.
- 55) POTOTSCHNIG, H.—Therapie der Gegenwart, Nr. 2, 1952.
- 56) RIETZSCHEL, H. H.—Medizinische Klinik, 48. Jahrg. Nr. 16, 1953.
- 56a) SCHAICH, E.—Therapie-Woche, 2. Folge, 1952.
- 57) SCHMAGER, A.—Aerztl. Wschr. Jg. 6, H. 27, 1951.
- 58) SCHMIDT, G. W.—Arch. Kinderheilk. 142, 113 (1951).
- 58a) SCHNEEGANS y HARSCHER.—Estrasburgo 1953 (en imprenta).
- 59) STEPP, W.—Med. Klinik. 573, 1950.
- 60) STEPP, KÜHNAU, SCHRÖDER.—Vitaminas. Ed. Español. II. 1942.
- 61) TORRES-MARTY, L.—Acta Pediátrica Española XI, 95, 1950.
- 62) TORRES-MARTY, L.—Arch de Pediatría, 5, 1951.
- 63) TORRES-MARTY, L. y VALL BAÑERES, J.—Barcelona 1953.
- 64) TORRES-MARTY, L. y FERRER, PI.—Barcelona 1953.
- 65) ULRICH.—Dtsch. med. Wschr. 1952, He. 47.
- 66) WACKER, DELLWEG u. ROWOLD.—Klin. Wschr. 1951, 786.
- 67) WEYGAND.—Angewandte Chemie, 1950, Heft 19.
- 68) WINDORFER.—Dtsch. med. Wschr. 1952, 723.

Potencial de demarcación en el sartorio aislado de "Calyptocephalus Gayi"

(Con 9 figuras)

por

A. Quijada y J. Concha

I) INTRODUCCION

Durante varios años se ha estudiado en este Instituto las modificaciones de la acomodación neuromuscular. Con el objeto de poder interpretar el significado de los cambios de la acomodación que se han encontrado, es necesario conocer la relación que existe entre la acomodación y las demás características del nervio y del músculo. Las interrelaciones de la acomodación con la reobase, la cronaxia y con la iniciación del potencial de acción, han sido establecidas por numerosos autores. Sin embargo se desconoce hasta ahora la posible vinculación entre la acomodación y el potencial de membrana (potencial de demarcación). Por este motivo se decidió hacer un estudio preliminar del potencial de demarcación en el músculo sartorio aislado, a fin de poder establecer en trabajos posteriores si existe o no una correlación entre los cambios de la acomodación neuromuscular y el potencial de membrana.

Hace aproximadamente 100 años que **E. du Bois-Reymond** y **Mateucci** describieron por primera vez la llamada "corriente de reposo" del músculo y encontraron que la parte seccionada tenía una polaridad negativa con respecto a la superficie intacta. En el año 1870 **L. Hermann** designó a las corrientes que circulan entre la parte lesionada y la superficie externa intacta del músculo como "corriente de demarcación". Posteriormente **Koch** (1) estudió las modificaciones de la corriente de demarcación en función del tiempo. Este autor observó, que la negatividad de la zona lesionada se propaga lentamente a lo largo de la superficie intacta. Interpretó este fenómeno como debido a la descarga progresiva de la membrana muscular polarizada a consecuencia de la circulación permanente de la corriente de demarcación, desde la superficie externa (positiva) hacia la

interna (negativa) a través del medio conductor de la región seccionada. Esta corriente de demarcación determinaría además una migración iónica que a su vez favorece la despolarización progresiva de la membrana muscular.

En el presente trabajo se estudiaron las modificaciones del potencial de demarcación en el transcurso del tiempo, la influencia que tiene la zona seccionada sobre la magnitud de potencial de demarcación. También se determinaron los cambios de la resistencia eléctrica del músculo a fin de establecer si las modificaciones del potencial de demarcación podían atribuirse a una alteración de las características físicas de la membrana muscular.

En un trabajo anterior (**Mena**²), realizado en este mismo Instituto, se describió la acción de ciertos anestésicos sobre la acomodación del músculo inervado, razón por la cual hemos estudiado el efecto de dos de estos anestésicos (novocaina y uretano) sobre el potencial de demarcación.

II) MATERIAL Y METODOS

En el presente trabajo se han utilizado 66 sapos (*Calyptocephalus gayi*), cuyos pesos oscilaron entre 200 y 400 gramos.

Para la medición del potencial de demarcación se utilizó el sistema potenciométrico descrito por **Rothschuh**³, y que se encuentra detallado en la Fig. 1. Como puede apreciarse, el aparato consta de una batería E que suministra la energía eléc-

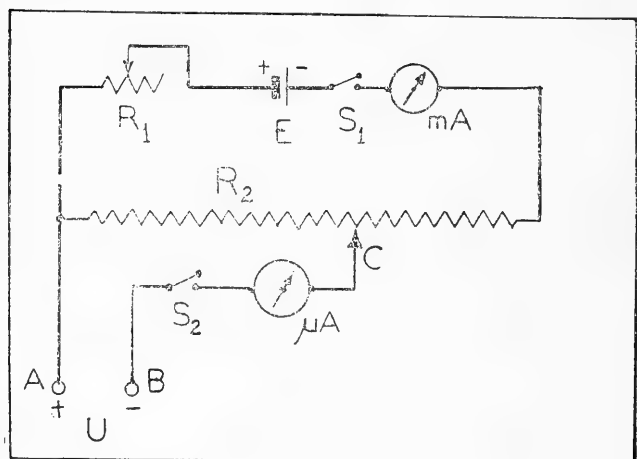


FIG. 1.—Diagrama del sistema potenciométrico.

E = batería; S_1 y S_2 = llaves de paso; mA = miliamperímetro; R_1 y R_2 = resistencia variables; μA = microamperímetro; U = utilización.

trica (1.5 Volts) al potenciómetro. Una vez cerrado el interruptor S_1 la corriente del circuito se mide en el miliamperímetro (mA) y el flujo se regula mediante la resistencia R_1 hasta que la diferencia de potencial entre los extremos de R_2 sea igual a 100 mV. Este valor fué calculado a base de los valores de R_2 y del miliamperaje circulante. Además se controló el potencial calculado por medio de un potenciómetro de precisión. La resistencia R_2 estaba constituida por un alambre de "nichrome" de un metro de largo, extendido sobre una regla graduada en milímetros. Cada centímetro de la regla correspondería a un mV.

El potencial de demarcación del músculo en estudio se determinó conectando los electrodos impolarizables con los puntos A y B (Fig. 1). Al cerrar la llave S_2 , no circulaba corriente a través del microamperímetro si el potencial de demarcación era igual al potencial que se establecía en la resistencia R_2 . Si dichos potenciales no eran iguales, había una deflexión del instrumento cero (μA) en uno u otro sentido. La precisión de estas determinaciones era de 0.5 mV.

Las mediciones de la resistencia eléctrica muscular se realizaron empleando un circuito especial representado en la Fig 2. Las corrientes sinusoidales generadas por un audio-oscilador

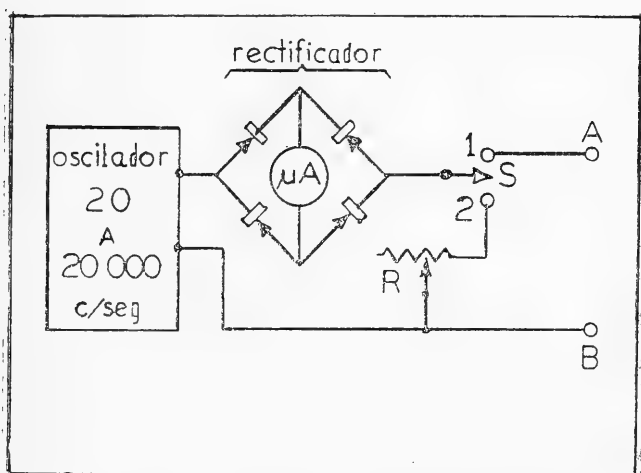


FIG. 2.—Circuito para la medición de la resistencia eléctrica muscular.

Las corrientes sinusoidales generadas en el oscilador se podían variar entre 20 ciclos por segundo (c/s) y 20,000 c/s μA = microamperímetro; S = llave de paso; R = resistencia variable.

podían variarse entre 20 y 20,000 ciclos por segundo. Mediante la llave de paso se podía hacer pasar la corriente alterna —de una determinada frecuencia— a través de la preparación

(músculo), o a través de una resistencia óhmica (R). El puente rectificador tenía por objeto permitir la medición de la intensidad de la corriente que circulaba a través de la preparación —o de la resistencia óhmica— mediante un microamperímetro de corriente continua, en tanto que por la preparación circulaba siempre una corriente alterna. Se procedió en esta forma para evitar la polarización del músculo. Una vez medido el microamperaje que circulaba a través del músculo (llave S en posición 1) se pasaba a la posición 2 y en seguida se desplazaba el cursor de la resistencia R hasta que el microamperaje era igual al anterior. En este momento el valor de R era equivalente a la resistencia del músculo. Para estas mediciones de resistencia se utilizaron las intensidades más bajas posibles, a fin de no estimular la preparación con la corriente alterna que circulaba a través de ella durante estas mediciones.

Los electrodos impolarizables que se usaron, tanto para las mediciones de potencial de demarcación, como para las de resistencias, fueron del tipo $Ag - AgCl$.

En todos los casos, menos en aquellos especificados en el texto se empleó el éter como anestésico general durante la extirpación del músculo sartorio. Bajo anestesia profunda se procedió a disecar cuidadosamente el músculo, colocando ligaduras cerca de sus extremos. Inmediatamente después de efectuada esta operación, se colocó el músculo en una cámara húmeda especial (Fig. 3). Se tomó la precaución de aislar uno de los extremos del músculo mediante una lámina de mica. Se procedió entonces a colocar los electrodos impolarizables de $Ag - AgCl$ mediante un adaptador de cremallera, de tal manera que uno de ellos (electrodo A) quedó siempre colocado en el centro de la parte lesionada, y el otro (B) sobre la superficie intacta del músculo. La distancia inter-electródica fué siempre de 20 milímetros, salvo en una serie de experimentos en que se estudió el efecto de la distancia entre los electrodos.

Los electrodos impolarizables fueron controlados antes y después de cada experimento, para lo cual se sumergieron en una solución de Ringer. En cada caso se verificó si existía o no polarización, y si había —antes o después— una polarización superior a 0.5 mV se descartó el electrodo.

La cloruración de los electrodos se efectuó sumergiendo los alambres de plata en una solución de cloruro de sodio al 0.9% haciendo pasar una corriente de 0.3 mA durante 10 minutos; la distancia interelectródica era de 20 mm.

Las mediciones del potencial de demarcación fueron hechas cada 5 o 10 minutos, durante un lapso de 3 horas a partir del primer control.

Se estudió también la influencia de algunas sustancias anestésicas (uretano, novocaína) sobre el potencial de demarcación. El procedimiento de medición utilizado en estos casos fué idéntico al descrito anteriormente. El uretano y la novocaína

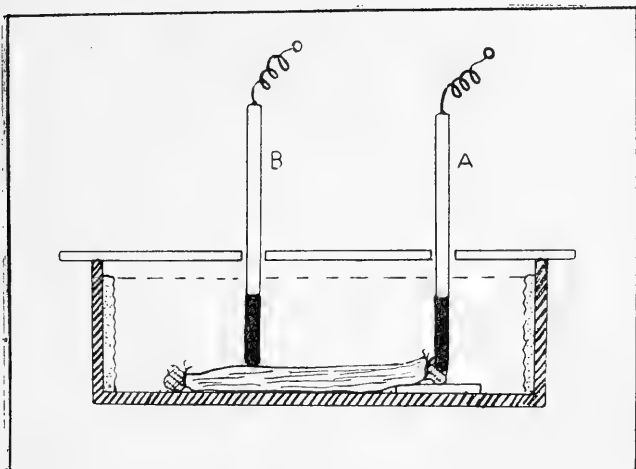


FIG. 3.—Cámara húmeda para el estudio del potencial de demarcación. A y B representan los electrodos impolarizables; uno de ellos colocado en la superficie intacta y el otro la zona lesionada. Este extremo está colocado sobre una lámina de mica.

La superficie interna de la cámara estaba recubierta con papel de filtro humedecido con Ringer. La cámara se cerró por medio de una lámina de celuloide, con perforaciones para los electrodos A y B.

na fueron inyectados en el saco linfático sublingual en las dosis siguientes: Uretano 2 cc. al 25% y Novocaína 5 cc. al 1%. Una vez alcanzada la anestesia profunda —más o menos 30 minutos después de la inyección— se procedió a extraer el músculo sartorio y a efectuar las mediciones correspondientes.

Para el estudio de la evolución de la resistencia eléctrica del músculo en función del tiempo utilizamos corrientes alternas de 100-300-1000-3000-10000 y 20000 ciclos por segundo. Estas corrientes se hicieron circular por la preparación a intensidades muy bajas: 10 μ A para las frecuencias de 100, 300 y 1000 ciclos por segundo; y 45 μ A para las frecuencias altas: 3000, 10000 y 20000 ciclos por segundo.

Para el estudio de la influencia de la distancia interelectrónica sobre el potencial de demarcación se hicieron determinaciones a: 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20 y 25 milímetros, quedando fijo el electrodo colocado en la parte seccionada y moviendo el otro a lo largo de la superficie intacta del músculo.

Se estudió por último la influencia de soluciones isoosmóticas de NaCl y KCl colocadas en uno de los extremos seccionados (el correspondiente al electrodo A de la Fig. 3).

III) RESULTADOS EXPERIMENTALES

A) Evolución del potencial de demarcación en función del tiempo

Como puede apreciarse en la Fig 4 los valores del potencial de demarcación decrecen rápidamente en los primeros 30 minutos para descender después con velocidad mucho menor. La dispersión de los valores individuales alrededor de los términos medios indicados en la Fig. 4 era pequeña, como se desprende

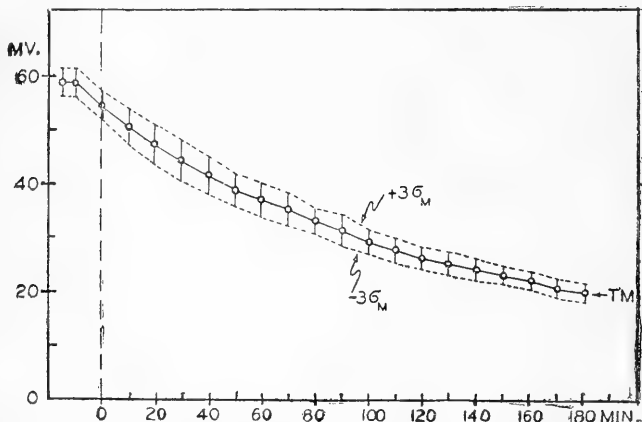


FIG. 4.—Variación del potencial de demarcación en función del tiempo. Ordenadas: potencial en milivoltios (MV). Abscisas: tiempo en minutos (MIN). El trazo continuo representa los valores términos medios y las líneas punteadas corresponden a 3 desviaciones standard de cada término medio ().

de la escasa desviación standard representada en la misma figura.

El descenso exponencial del potencial de demarcación podría deberse 1º) a una disminución real del potencial en la membrana muscular misma; 2º) a alteraciones progresivas a nivel del extremo seccionado y 3º) a un cambio de las condiciones eléctricas en el interior o exterior del músculo. Para dilucidar este problema se realizaron una serie de experimentos que se describen a continuación.

B) Influencia de las modificaciones del extremo seccionado sobre el potencial de demarcación

Se observó que si después de producido el descenso exponencial del potencial de demarcación se practicaba un nuevo

corte en las inmediaciones de la parte primitiva seccionada, el potencial de demarcación entre la parte intacta del músculo y este nuevo corte no solamente volvía al valor primitivo sino que lo sobrepasaba (Fig. 5-A).

El potencial después de esta sección volvió a descender en la misma forma. Cada vez que se practicó un nuevo corte se observó el alza instantánea de dicho potencial. Vale la pena hacer notar que los valores máximos alcanzados después de cada corte fueron ascendiendo progresivamente (Fig. 5-A).

Este mismo fenómeno se observó cuando los electrodos impolarizables fueron colocados en ambos extremos seccionados del músculo sartorio (Fig. 5-B). Durante la primera media hora el potencial se mantuvo en cero, pero al practicar en un extremo un nuevo corte, se produjo un alza brusca del potencial que fué descendiendo paulatinamente con el tiempo. Es interesante hacer notar que el extremo recientemente seccionado era negativo con respecto al seccionado primitivamente. Al ha-

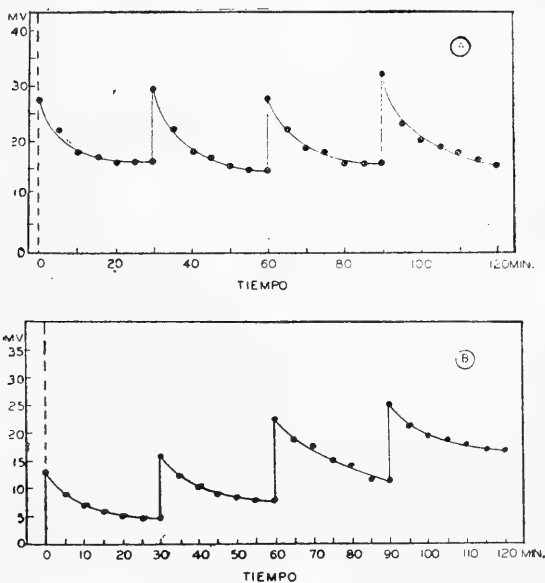


FIG. 5.—Influencia de cortes sucesivos en el músculo sartorio en las inmediaciones de la zona lesionada.

A) Cada vez que se practicó un corte se producía un alza inmediata del potencial de demarcación. Uno de los electrodos estaba en la superficie intacta y el otro se iba colocando sobre la región seccionada.

B) Diferencias de potencial entre dos extremos seccionados del sartorio. Al hacer cada media hora una nueva sección en uno de los extremos lesionados, se producía una elevación brusca del potencial.

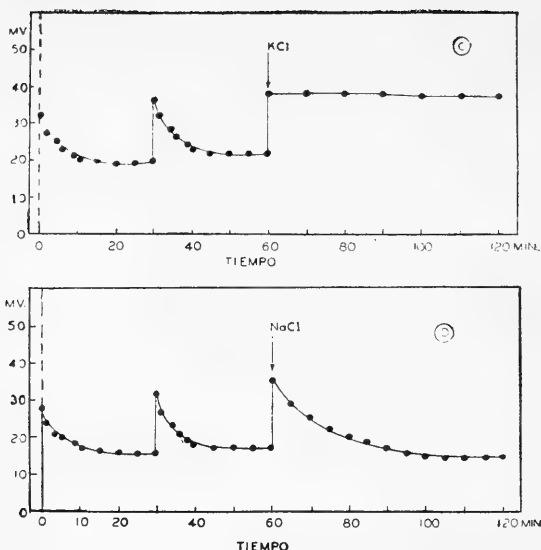


FIG. 5.—C) Potencial de demarcación (un electrodo en la superficie intacta y el otro en el extremo seccionado) y sus variaciones con el tiempo. Elevación del potencial al practicar un nuevo corte y mantención a un nivel constante después de colocar una gota de KCl en la superficie recientemente cortada.

D) Efecto de las secciones sucesivas en uno de los extremos del sartorio sobre el potencial de demarcación y la acción de una gota de NaCl colocada en el extremo recientemente seccionado.

cer nuevos cortes en el mismo extremo del músculo, el valor máximo alcanzado por el potencial de demarcación iba subiendo paulatinamente.

Estos experimentos demuestran que en el extremo seccionado se producen cambios progresivos con tendencia hacia la polarización positiva de la región lesionada.

En consideración a estos hechos tratamos de estudiar las causas que pudieran explicar la aparición de este fenómeno. Como era muy probable que los iones K y Na tuvieran influencia en este proceso, se colocó en la parte seccionada una gota de una solución iso-osmótica de KCl o de NaCl.

Si después de haber practicado varios cortes sucesivos en el extremo seccionado (Fig. 5-C), se aplicaba una gota de KCl al 1.2% en el sitio recientemente seccionado, se observaba que el potencial de demarcación se mantenía invariable. Tal como en todos los experimentos anteriores se hizo el control inicial y final de los electrodos para descartar la posible polarización.

Cuando se repitió este mismo experimento, pero reemplazando el KCl por el NaCl al 0.9%, se observó que el potencial

de demarcación descendía exponencialmente en la forma habitual (Fig. 5-D).

C) Análisis de las características eléctricas de la membrana muscular del sartorio

Con el objeto de estudiar la intervención de otras posibles causas en la caída exponencial del potencial de demarcación, se realizaron una serie de mediciones de la impedancia del músculo sartorio aislado. Con este fin se exploró, mediante el circuito de comparación detallado en la Fig. 2, las variaciones de las resistencias y capacidades de la membrana muscular.

En la Fig. 6 se puede apreciar, que la resistencia del músculo —entre la zona seccionada y la superficie intacta— aumentó linealmente al disminuir la frecuencia, si la representación de

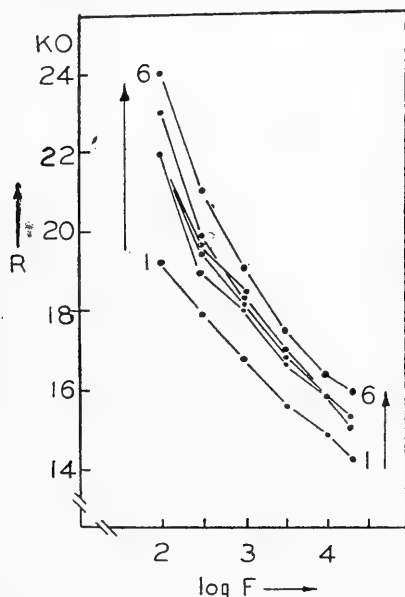


FIG. 6.—Variación de la resistencia eléctrica del músculo sartorio aislado en relación con diferentes frecuencias. Ordenadas: resistencia en kilo-ohmios (KO). Abscisas: logaritmo de la frecuencia de la corriente alterna sinusoidal. Curva 1) al comenzar el experimento (control inicial) y curva 6) al finalizar las mediciones dos horas después.

los resultados se hace en escala semilogarítmica. A medida que transcurre el tiempo las resistencias aumentaron y cambió la inclinación de las curvas de resistencia en la zona de las frecuencias bajas (véase Fig. 6).

D) Influencia de la distancia interelectródica en el potencial de demarcación

Al aumentar la distancia interelectródica el potencial de demarcación ascendió en forma exponencial, llegando a estabilizarse los valores cuando la separación de los electrodos era mayor de 15 milímetros (Fig. 7). Por esta razón se fijó la distancia de 20 milímetros para la mayoría de las determinaciones.

E) Acción del uretano y la novocaína sobre el potencial de demarcación

Se realizaron 8 experimentos con cada uno de estos fármacos, controlando la evolución del potencial de demarcación durante 3 horas. Se observó (Fig. 8), tal como en los demás experimentos, que el potencial de demarcación descendía rápidamente en los primeros 30 a 40 minutos, para hacerlo después en forma menos acentuada.

IV) DISCUSION

Se estudió el potencial de demarcación en función del tiempo y se observó una declinación exponencial de este potencial. A los 100 minutos de iniciadas las mediciones el potencial llegó a la mitad de su valor original (véase Fig. 4). Según **Rotschuh**³ este "tiempo medio" sirve para caracterizar la longitud de las unidades musculares. El tiempo medio de descenso del potencial de demarcación será tanto menor cuanto más corta sea la unidad muscular en estudio. Esta hipótesis se basa en que la velocidad de descarga de la membrana muscular depende 1º) de la capacidad eléctrica de la unidad muscular y 2º) de la magnitud de las resistencias interna y externa que hacen posible la descarga de dicho condensador. Como veremos más adelante hay varios hechos que hablan en contra de esta hipótesis.

Cuando el músculo sartorio se mantuvo en cámara húmeda por largo tiempo (24 horas o más) el potencial de demarcación se estabilizó entre los 10 y 15 MV. En la fibra aislada (sartorio de rana) y utilizando microelectrodos para medir el potencial de membrana **Ling y Gerard**⁵ encontraron dos componentes; uno vinculado estrechamente con la intensidad del metabolismo muscular (potencial A) y otro (potencial B) relacionado con la integridad de la membrana misma. Es posible, que la mantención del potencial de demarcación a un nivel constante (10-15 MV), podría explicarse como debido a la persistencia del potencial B descrito por estos autores.

Para estudiar la causa del descenso del potencial de demarcación con el tiempo se modificaron las condiciones a nivel de la zona lesionada del músculo. Se encontró, que si se practicaba un nuevo corte en las inmediaciones del corte primitivo, el potencial de demarcación recuperaba instantáneamente su valor inicial, para descender de nuevo en forma exponencial (véa-

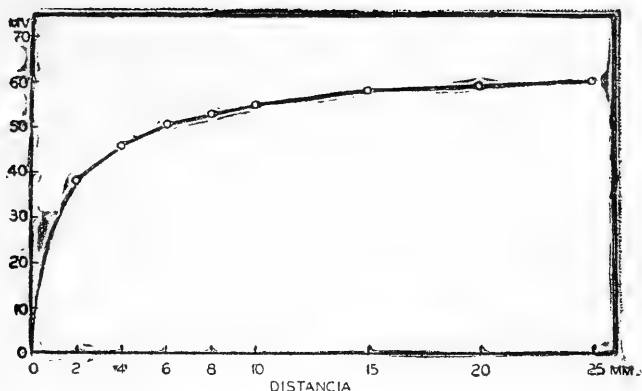


FIG. 7.—Influencia de la distancia entre los electrodos sobre la magnitud del potencial de demarcación. Ordenadas: potencial (M. V); Abscisas: distancia en milímetros (MM). El electrodo de la zona lesionada se mantuvo fijo y se desplazó el otro a lo largo de la superficie intacta del músculo.

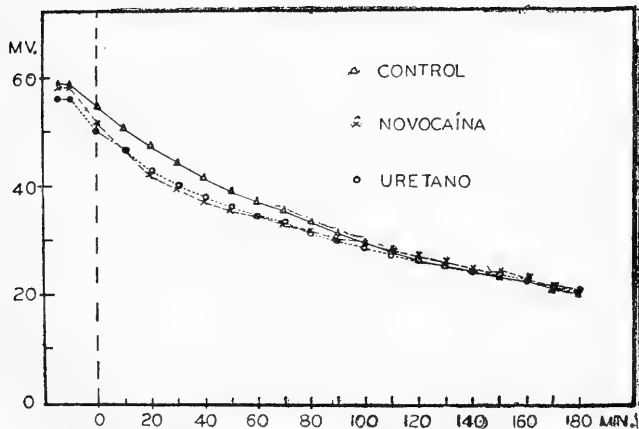


FIG. 8.—Evolución del potencial de demarcación en función del tiempo. Ordenadas: potencial en milivoltios. Abscisas: tiempo en minuto. Acción de los anestésicos (Novocaína y Uretano).

se Fig. 5-A). Esto indica, que a nivel de la zona lesionada se producen modificaciones progresivas que determinan la reducción de la diferencia de potencial entre la parte seccionada y la superficie intacta del músculo. Para corroborar lo anteriormente dicho se colocaron los electrodos en los extremos seccionados del músculo. Inicialmente no se observó una diferencia de potencial entre ellos; pero si al cabo de media hora se practicaba una nueva sección en uno de los extremos y se colocaba en ese sitio el electrodo, se encontró que había una diferencia de potencial de 15 MV. Al repetir estas secciones unilaterales, la diferencia del potencial fué aumentando con el tiempo (véase Fig. 5-B) debido a los cambios progresivos en el extremo primitivamente seccionado.

De esta serie de experimentos se puede concluir que la disminución progresiva del potencial de demarcación se debe en gran parte a las modificaciones que se producen a nivel de la zona lesionada.

En cuanto a la naturaleza de los cambios que se producen a nivel de la sección, debe pensarse ante todo en la posible influencia de los iones potasio y sodio, iones que están íntimamente vinculados con la génesis del potencial de membrana. Cuando se colocó en el extremo seccionado una gota de solución iso-osmótica de KCl, la caída del potencial de demarcación fué impedida (Fig. 5-C); en tanto que una solución iso-osmótica de NaCl no influyó sobre este descenso (Fig. 5-D).

Estos resultados se pueden interpretar de la siguiente manera. Al practicarse un corte en el extremo del músculo, el electrodo impolarizable quedó en contacto con el interior de las fibras musculares, que es rico en potasio. Con el tiempo el potasio endocelular difunde —a través del líquido que cubre la superficie seccionada— hacia las regiones de menor concentración; o sea hacia el tejido intersticial del músculo, que es pobre en potasio. El espacio ocupado por el líquido extracelular oscila en el músculo de rana entre 12 y 27% como valores promedios (Katz) ⁶. Por otra parte, el sodio extracelular difunde desde el líquido intersticial hacia el interior de las fibras musculares. Al humedecerse la zona seccionada con una gota de solución de KCl, la alta concentración de potasio en este líquido reduce notablemente la velocidad de difusión del potasio endocelular, y por lo tanto se estabiliza el potencial de demarcación (véase Fig. 5-C). La adición de una gota de solución iso-osmótica de NaCl no impidió el descenso del potencial de demarcación, sino que la caída de dicho potencial se realizó en la forma descrita anteriormente.

Una vez demostrada la gran importancia que tenían las modificaciones a nivel de la región seccionada, se procedió a estudiar la participación de otros factores que podrían influir en el descenso progresivo del potencial de demarcación. Teóricamente existen dos métodos de estudio; uno de ellos consiste en medir directamente el potencial de membrana —por medio de microelectrodos— de la fibra muscular aislada, y el otro es un procedimiento indirecto, que se basa en la medición de la impedancia del músculo total frente a la corriente alterna de dife-

rentes frecuencias. El primer método ha sido utilizado por **Ling y Gerard** ⁷ en la fibra aislada del sartorio de rana, autores que encontraron que el potencial de membrana descendía de 70.7 MV a 62.9 MV en cuatro horas. Este descenso del potencial de membrana se atribuyó a la acumulación progresiva de potasio en la solución fisiológica que rodeaba al músculo. Se demostró que existía una difusión de este ión desde el interior hacia el exterior de la fibra muscular. Si se renovaba la solución fisiológica constantemente, el potencial de membrana prácticamente no se modifica durante las cuatro horas de observación. La constancia del potencial de membrana de la fibra muscular aislada y mantenida en condiciones óptimas, no se puede homologar con los experimentos descritos en este trabajo, por cuanto las mediciones se realizaron en el sartorio total, con ambos extremos seccionados, circunstancia que favorece la migración del potasio hacia el exterior.

Con el fin de poder estudiar —aunque en forma indirecta— las propiedades de la membrana muscular en las mismas condiciones en que se hicieron las mediciones del potencial de demarcación, se exploraron los cambios de la impedancia muscular en función del tiempo. Para interpretar estos resultados, se utilizó un modelo convencional de la membrana muscular (Fig. 9-A), representada por un condensador variable (C_1) y por las resistencias variables en paralelo (R_1) y en serie (R_2). En este modelo se hicieron mediciones sistemáticas, modificando una vez la capacidad (C_1) mientras se mantenían constantes las resistencias (R_1 y R_2); en tanto que en otras mediciones se variaba la resistencia en serie (R_2) o la resistencia en paralelo (R_1). Al variar la capacidad hubo una escasa influencia sobre la impedancia (Fig. 9-B). Por el contrario, la resistencia en serie (R_2) tenía una influencia directa sobre la magnitud de la impedancia, sin modificar la inclinación de las curvas que rela-

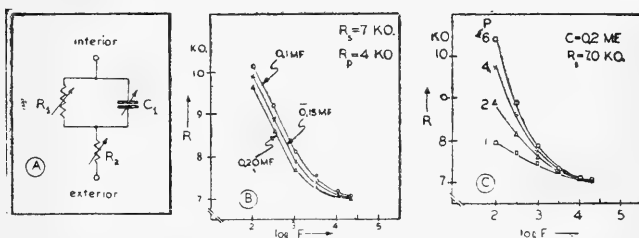


FIG. 9.—Estudio de la impedancia del sartorio aislado.

A) Modelo de la membrana muscular. C_1 = capacidad eléctrica. R_1 = resistencia variable en paralelo con la capacidad; R_2 = resistencia variable en serie.

B) Variación de la impedancia del modelo al modificar la capacidad, expresada en microfaradios (MF). Ordenadas: resistencia o impedancia en kilo-ohmios (KO). Abscisas: logaritmo de la frecuencia (F).

C) Influencia de la resistencia en paralelo (P) sobre la impedancia en el modelo. Ordenadas: impedancia en kilo-ohmios (KO). Abscisas: logaritmo de la frecuencia (F).

cionan la resistencia (impedancia) con la frecuencia aplicada. A medida que subía la resistencia en paralelo (R_1), la inclinación de las curvas aumentaba en la zona de las bajas frecuencias (Fig. 9-C). En las altas frecuencias no existía una influencia de la resistencia en paralelo sobre la resistencia total del modelo, ya que la casi totalidad de la corriente circulaba a través de la capacidad (C_1). Los valores encontrados en el modelo fueron confirmados mediante los cálculos de impedancia *, utilizando como variables los valores del mismo modelo. Los resultados de esta serie de experimentos se pueden resumir diciendo, que el ascenso progresivo de la impedancia muscular con el tiempo, especialmente en las zonas de las bajas frecuencias, indica que hay un aumento de las resistencias que están en serie y en paralelo con la capacidad eléctrica de la membrana. De estas mediciones no se puede reducir si hay o no un cambio de la capacidad; pero de varios estudios realizados por otros autores se desprende que dicha capacidad eléctrica es constante. **Cole y Curtis** ⁸ han encontrado que la capacidad del nervio es prácticamente invariable. Aún durante el proceso de excitación, dicha capacidad sólo disminuye en un 2%, en tanto que las resistencias caen de 1000 a 25 Ohm/cm². **Katz** ⁹ ha estudiado los cambios de impedancia en el músculo y ha confirmado los hallazgos que **Cole y Curtis** describieron en el nervio. Todos estos datos hablan en favor de la constancia del factor capacitativo de la membrana muscular.

El incremento de resistencia (impedancia) que nosotros hemos encontrado no es suficiente para explicar el descenso progresivo del potencial de demarcación, sino que por el contrario —por las razones dadas más arriba— dicho potencial debería aumentar. Habla en favor de esta última aseveración el hecho que en cortes sucesivos practicados en el músculo el potencial de demarcación registrado aumente (Fig. 5 A-B-C).

Otro aspecto de orden físico que pudiera influir sobre la magnitud del potencial de demarcación es la distancia interestródica. Cuando la distancia entre el electrodo colocado en la parte seccionada y el electrodo puesto en la superficie intacta es superior a 15 mm. el potencial de demarcación es prácticamente constante (Fig. 7). A distancias menores el potencial de demarcación cae exponencialmente. Asumiendo un potencial de demarcación más o menos constante, este descenso del potencial

* La resistencia total (impedancia) del músculo a determinada frecuencia es:

$$R_T = R_2 + \frac{R_1 \cdot R_{C1}}{R_1 + R_{C1}} \quad \text{siendo} \quad R_{C1} = \frac{1}{2 \pi F C}$$

en que F = frecuencia y C = capacidad de la membrana.

se debe atribuir a la variación de la resistencia externa e interna del músculo. **Schaefer**¹⁰ ha hecho un estudio cuantitativo de esta relación, que se rige por la siguiente ecuación:

$$E_1 = \frac{R_e}{R_e + R_i} \cdot E$$

siendo: E_1 el potencial medido; R_e = resistencia externa del músculo; R_i = resistencia interna del músculo; E = potencial verdadero de la membrana.

De esta fórmula se desprende, que la magnitud del potencial medido (E_1) depende de la relación que existe entre las resistencias externas e internas, las que varían con la distancia.

Si se compara el descenso del potencial de demarcación del sartorio obtenido de sapos bajo anestesia etérea, con los sartorios provenientes de animales anestesiados con uretano o novocaína, no se observa una diferencia significativa entre los valores de estos dos grupos. Estos resultados no concuerdan con las observaciones de **Fleckenstein y col.**¹¹, quienes constataron que los anestésicos locales aplicados "in vitro" impiden la despolarización del músculo, y a su vez reducen las pérdidas de potasio. Por otra parte, **Rothschuh y Bogatzki**¹² inyectaron uretano en el saco linfático dorsal de la rana y encontraron que durante la anestesia profunda el potencial de demarcación era un 13% mayor que en los animales controles. El mismo aumento lo observaron con la anestesia etérea por inhalación. Por otra parte la novocaína al 1.1% (en Ringer), retarda la caída del potencial de demarcación "in vitro" si el extremo seccionado del sartorio se sumerge en esta solución. También la cocaína (0.05%) tiene una acción semejante; disminuye la permeabilidad al potasio y al mismo tiempo mantiene el potencial de membrana (**Shanes**)¹³.

Los efectos de estabilización del potencial de demarcación descritos por los autores antes mencionados son muy pronunciados, razón por la cual se debieron observar en nuestra serie de mediciones. Sin embargo, no se encontró una diferencia significativa entre el potencial de demarcación de los músculos extraídos bajo anestesia (uretano, novocaína) con respecto a los controles (Fig. 8). Esta divergencia, en cuanto al efecto de estabilización del potencial de demarcación que tienen algunos anestésicos, merece ser estudiada en el futuro.

V) RESUMEN

1.—Se estudia el potencial de demarcación del músculo sartorio aislado de sapo y se constata que dicho potencial disminuye exponencialmente con el transcurso del tiempo.

2.—El potencial de demarcación se puede restablecer al nivel original si después de su descenso se practica un nuevo corte en el mismo músculo.

3.—Si se coloca una gota de solución iso-osmótica de KCl en el extremo lesionado, el potencial de demarcación se mantiene en un nivel constante. No sucede lo mismo con una solución de NaCl, que no impide el descenso del potencial de demarcación.

4.—El estudio de la impedancia del músculo en función del tiempo reveló que hay un aumento de la resistencia en serie y en paralelo de la membrana muscular, y que probablemente la capacidad eléctrica se mantiene constante.

5.—De los experimentos se desprende que las modificaciones del potencial de demarcación muscular se deben preferentemente a la difusión iónica a nivel de la zona lesionada.

6.—El potencial de demarcación varía en forma exponencial cuando varía la distancia que existe entre los electrodos de medida.

7.—Los anestésicos (uretano y novocaína) no impiden el descenso del potencial de demarcación, tal como lo han descrito otros autores.

8.—Se discute el significado de las variaciones del potencial de demarcación en relación con otras características fisiológicas del músculo.

SUMMARY

The demarcation potential of the isolated frog sartorius is an exponential function of the distance between the registering electrodes and falls exponentially with time. Sectioning the sartorius anew restores the demarcation potential, which also remains constant if the cut end is in contact with an isosmotic KCl solution. NaCl solution does not prevent the fall of the demarcation potential, neither is the fall influenced by urethane or novocaine.

The electrical resistances, in parallel and in series of the sartorius membrane, increase with time, while it is likely that the electrical capacity of the membrane remains constant.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Verletzungspotential des isolierten M. sartorius des Frosches ändert sich exponentiell mit der Entfernung der Elektroden. Dieses Potential sinkt in Laufe der Zeit. Wenn eine neue Schnittfläche angelegt wird, steigt das Verletzungspotential auf den primitiven Wert. Das selbe Resultat erzielt man, wenn die Schnittfläche mit einer isotonischen KCl-Lösung benetzt wird. Ein Tropfen NaCl-Lösung hat keinen Einfluss auf den Abfall des Verletzungspotentials. Auch Novocain oder Urethan üben keinen Einfluss aus.

Die elektrischen Membranwiderstände des Sartoriusmuskels vergrößern sich mit der Zeit; während die Membrankapazität unverändert bleibt.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—KOCH, E.—Pflügers Arch. ges. Physiol., 201: 537, 1923.
 - 2.—MENA, M.—Influencia de algunos anestésicos generales sobre la acomodación del músculo normal y denervado de la rata. Tesis de Licenciatura en Medicina (1952).
 - 3.—ROTHSCHUH, K. E.—Pflügers Arch. ges. Physiol., 251, 262, 1949.
 - 4.—ROTHSCHUH, K. E.—Pflügers Arch. ges. Physiol., 253, 238, 1951.
 - 5.—LING, G., GERARD, R. W.—J. Cell and Comp. Physiol., 34, 413, 1949.
 - 6.—KATZ, B.—J. Physiol., 107, 33P, 1948.
 - 7.—LING, G., GERARD, R. W.—J. Cell and Comp. Physiol., 34, 383, 1949.
 - 8.—COLE, K. S., CURTIS, H. J.—J. Gen. Physiol., 22, 649, 1939.
 - 9.—KATZ, B.—J. Neurophysiol., 5, 169, 1942.
 - 10.—SCHAEFER, H.—Elektrophysiologie. F. Deuticke, Wien. 1940. Bd. I. p. 261.
 - 11.—FLECKENSTEIN, A., WAGNER, E., GÖGGE, K. H.—Pflügers Arch. ges. Physiol., 253, 38-1950.
 - 12.—ROTHSCHUH, K. E., BOGATZKI, M.—Pflügers Arch. ges. Physiol., 253, 59, 1950.
 - 13.—SHANES, A. M.—Science, 107, 679, 1948.
-



Incrementos de volumen y respuestas presoras en el sistema arterial

(Con 10 figuras)

por

J. Macchiavello, J. Concha y B. Günther

I) INTRODUCCION

En años anteriores se realizaron en este Instituto una serie de trabajos relacionados con la elevación de la presión arterial después de la acción de diversos estímulos presores (**Figueroa**¹; **Günther y García Campo**^{2, 3, 4}). Estos estudios fueron hechos en el hombre normal y en pacientes con diferentes grados de hipertensión. Los estímulos presores fueron la sumersión de una mano en agua con hielo (Cold Pressor Test), la apnea voluntaria y la inyección de una dosis determinada de Efetonina. Las respuestas presoras obtenidas por estos procedimientos se expresaron en mm. Hg y según haya sido la magnitud del alza de presión, los pacientes fueron clasificados en normoreactores e hiperreactores de acuerdo con las normas establecidas por **Hines y Brown** (⁵). Cuando la respuesta presora era exagerada, mayor de 15 mm. Hg para la diastólica y de 20-22 mm. Hg para la sistólica, se clasificó al individuo como hiperreactor. Esta clasificación era de importancia, por cuanto el normotenso hiperreactor era considerado por la mayoría de los autores como un "pre-hipertenso"; de ahí la importancia pronóstica de esta clasificación.

Por razones de orden teórico, que se basaron en las características de la curva de presión-volumen de la aorta (**Hallock y Benson**⁶; **Bazett**⁷) se propuso por **Günther y García Campo** (^{2, 3}) expresar los incrementos de presión en relación con la altura de la presión basal diastólica o sistólica. Según estos autores, la "Reacción Tensional" de un paciente se podría calcular según la siguiente fórmula:

$$\text{Reacción Tensional} = \frac{\text{Respuesta presora}}{\text{Presión diastólica}} \times 100\%$$

Cuando la reacción tensional era mayor del 20%, se clasificaba el paciente como hiperreactor. Posteriormente los trabajos de **Remington y col.** ⁽⁸⁾ permitieron precisar aún más el significado fisiológico de la reacción tensional (**Günther** ⁽⁹⁾). Según el criterio de **Hines y Brown**, el número de hiperreactores aumenta a medida que se agrava la hipertensión, en tanto que según el criterio de la reacción tensional, el porcentaje de hiperreactores es constante para hipertensos y normotensos (**Günther** ⁹).

A fin de estudiar experimentalmente las respuestas presoras a diferentes niveles de presión arterial, se utilizó un sistema de infusión semejante al descrito por **Guyton** ⁽¹⁰⁾, que permitió producir un determinado incremento de volumen a una velocidad constante. Se prefirió este método hemodinámico, porque en los procedimientos de estimulación presora utilizados en los estudios clínicos, la respuesta presora depende de numerosos factores que pueden interferir en los complicados reflejos que determinan la elevación de la presión arterial. Así por ejemplo, en el reflejo presor por oclusión carotídea, utilizado por **Prochnik y col.** ⁽¹¹⁾ como estímulo presor, la respuesta presora depende de numerosos factores nerviosos periféricos y centrales, que en parte explicarían la gran variabilidad de los resultados obtenidos por estos autores.

En el presente trabajo se estudiaron las respuestas presoras inducidas por aumentos bruscos de volumen en el sistema arterial por infusión de una cantidad determinada de sangre. Estas hipertensiones transitorias fueron estudiadas en perros y conejos anestesiados. Posteriormente se hizo la comparación entre las respuestas controles y aquellas observadas después de la inyección de adrenalina o acetilcolina. También se estudió en conejos la influencia de la sección de los nervios reguladores de la presión (nervio de Cyon y de Hering) sobre la magnitud de la respuesta presora. Finalmente se compararon los incrementos de presión "in vivo" con las cifras obtenidas "post-mortem".

II) MATERIAL Y METODOS

En el presente estudio se utilizaron 32 conejos, cuyos pesos fluctuaron entre 1.8 y 4.0 kg. y 56 perros con pesos que variaron entre 2.5 y 15.0 kg.

En los perros se utilizó como anestésico un barbitúrico (Seconal) a la dosis de 30 mg/Kg. de peso. En los conejos se usó uretano en solución al 25% a la dosis de 1.0 g/Kg. de peso. En todos los animales la vía de administración fué intraperitoneal.

Con el objeto de estudiar las variaciones de la presión arterial ocasionadas por la inyección intraarterial (carótida o femoral) de un volumen constante de líquido se utilizó el aparato representado en la Fig. 1. Como puede apreciarse en dicha figura, el sistema de infusión consta de un baño termostático (B) que contiene agua a temperatura constante ($38 \pm 0.1^\circ\text{C}$), dentro del cual se encuentra un tubo graduado (G) que contiene en su parte inferior mercurio y en el resto una solución de Ringer

heparinizado al 1%. El mercurio proviene del depósito (D) colocado a 1.10 metros sobre el nivel de la arteria carótida. El paso del mercurio hacia el tubo (G) es regulado por medio de la llave (L_1), que al desplazarse en el sentido de la flecha (Fig. 1) cierra el contacto (C) y pone en actividad al inscriptor (S). Para el funcionamiento del inscriptor (S) se dispone de 6.3V de corriente alterna, entregados por el transformador (T) conectado a la red de la calle. Del extremo superior del tubo (G) sale el tubo de plástico (tygon) que establece la conexión con la arteria carótida izquierda (C. I.) a través de una cánula de vidrio (c. a.). A la salida de este tubo se encuentra una rama vertical para captar burbujas (A).

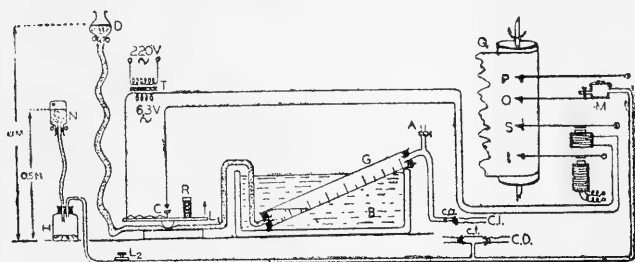


FIG. 1.—Diagrama del sistema de infusión.

D = depósito de mercurio a 1.1 metros sobre el nivel de la mesa. N = reservorio de mercurio. H = frasco con Ringer heparinizado. T = transformador. C = contacto para el circuito de señal (S). B = baño termostático. G = tubo graduado. A = trampa de aire. Q = quimógrafo.

C. I. = arteria carótida izquierda. C. D. = arteria carótida derecha.

L_1 = palanca que permite el paso del mercurio desde el reservorio (D) hacia el tubo de graduado (G).

L_2 = llave de control de la infusión de Ringer reparañizado. c. a. = cánula arterial; c. t. = cánula en T;

M = Cápsula de registro de la presión arterial (P);

O = línea cero de referencia;

S = señal magnética de la infusión;

t = señal del tiempo (marca cada 15 segundos).

Para registrar la presión arterial (P) se utilizó una cánula en T (c. t.) introducida entre los extremos seccionados de la carótida derecha (C. D.). La rama libre de la cánula en T se conectó por una parte con la cápsula de registro (M) a través de un tubo de plástico y por la otra con el depósito de solución de Ringer heparinizado (H), que está bajo una presión determinada por la altura de la columna de mercurio proveniente del depósito (N), colocado a 0.5 metros de altura sobre el nivel carotídeo. La entrada de Ringer heparinizado hacia la arteria carótida (C. D.) era regulada mediante una llave de Hoffmann (L_2). La presión arterial se registró en un quimógrafo de extensión (Q). La cápsula para el registro de la presión tenía un inscriptor de referencia (O). Debajo de la cápsula (M) se hallaba el inscriptor electromagnético (S) que servía para indicar el

momento inicial y final de la infusión. Por último se había colocado un inscriptor electromagnético (t) para el registro del tiempo cada 15 segundos.

Una vez anestesiado y fijado el animal se procedió a denudar las arterias carótidas que fueron canuladas en seguida.

Para provocar los incrementos de volumen en el sistema arterial bastaba con elevar la palanca L_1 , que mantenía permanentemente ocluido el lumen del tubo. Cuando se levanta la palanca L_1 pasa mercurio desde el depósito (D) al tubo graduado (G), y al mismo tiempo se cerraba el circuito del inscriptor electromagnético (S) por medio del contacto (C). La cantidad de líquido infundido cada vez correspondía a 0.5% del peso corporal, o sea al 10% de la volemia del animal. La volemia se calculó a base del peso del cuerpo, según la fórmula de Brody ⁽¹²⁾.

Inmediatamente después del primer incremento de volumen se continuaba con infusiones de igual volumen que la primera, hasta agotar el contenido del tubo graduado (G). Una vez terminada esta primera parte se procedió a bajar el depósito (D), a abrir la llave de paso L_1 produciendo así una succión dentro del tubo graduado G. A consecuencia de esto, entraba la sangre desde el sistema circulatorio hacia el tubo G, hasta llenarlo completamente. Como respuesta a esta sangría la presión descendía a valores muy bajos, los que se mantuvieron por corto tiempo para evitar trastornos graves en la función de los centros nerviosos. Inmediatamente de estabilizada esta hipotensión, se procedía a repetir la serie de infusiones sucesivas, hasta agotar nuevamente el contenido del tubo G. Esta operación se repetió varias veces en cada animal. En los experimentos en que se estudió la influencia de ciertas drogas, éstas se inyectaron en la vena marginal de la oreja (conejo) y en la vena yugular (perro). Se utilizó clorhidrato de adrenalina (Clin), acetilcolina (Hoffmann-La Roche) y efetonina (Merck).

III) RESULTADOS EXPERIMENTALES

La infusión de un volumen determinado de líquido en el sistema arterial produce una elevación de la presión en dicho sistema, que depende de la velocidad de la infusión y del volumen total de líquido infundido. Por otra parte la respuesta presora a este incremento de volumen está en relación con el volumen total del sistema arterial, de la elasticidad de las paredes de dicho reservorio, y de la cantidad de sangre que sale de él durante el período de infusión.

Con el objeto de estudiar las características físicas del sistema arterial se estandarizaron las condiciones de infusión, o sea, que el incremento de volumen y la velocidad de infusión fueron lo más constantes posible. El sistema de infusión representado en la Fig. 1 cumplía con estos requisitos. El depósito de mercurio (D) se encontraba a 1 metro de mercurio sobre el nivel del animal, lo que determinaba que la velocidad de infusión fuera constante e independiente de la altura de la presión

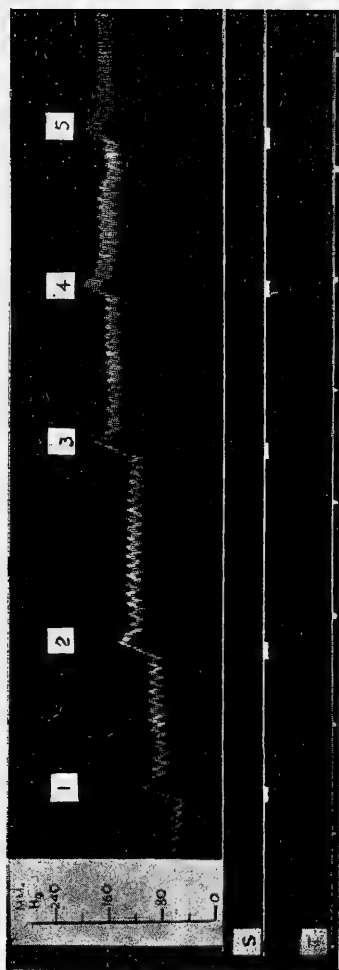


FIG. 2.—Registro de la presión arterial del conejo después de 5 infusiones sucesivas.

Ordenadas: Presión arterial en mm.Hg, Abscisas: Señal del momento de infusión (S) y del tiempo T (15 segundos).

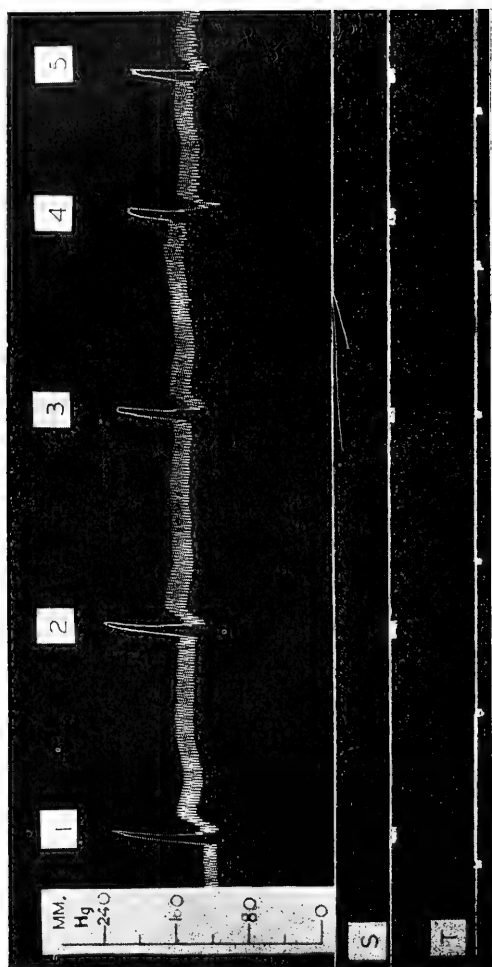


FIG. 3.—Registro de la presión arterial del conejo en el cual se observa la "respuesta difísica" consecutiva a cada infusión. Para mayores detalles véase el texto.

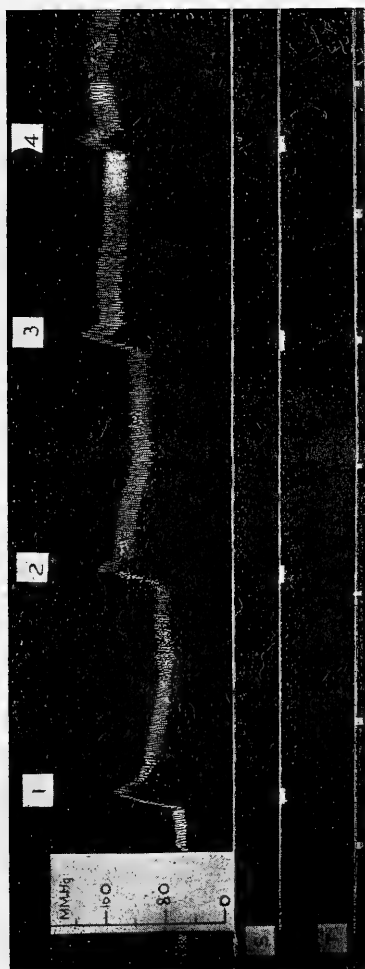


FIG. 4.— Presión arterial del conejo después de la inyección de adrenalina (0.1 ml. al 0.1%). Los incrementos de volumen (1-4) se hicieron después de que la acción de la adrenalina en el aparato circulatorio se había estabilizado.

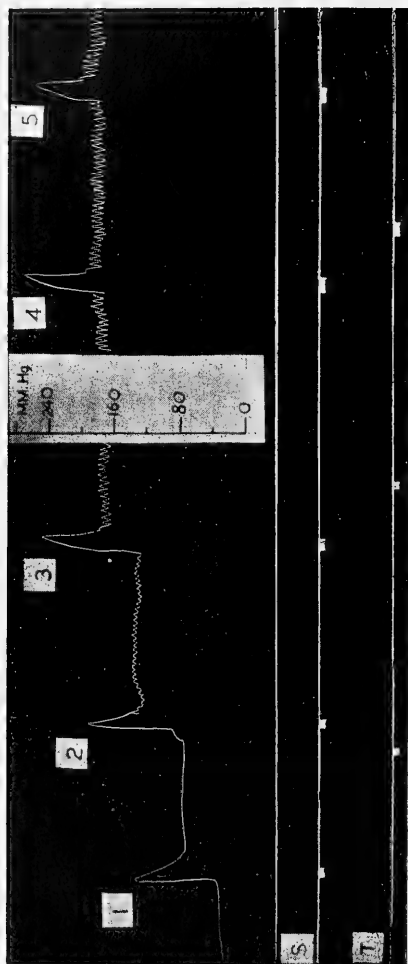


FIG. 5.—Registro de la presión arterial en el conejo después de la exclusión de los presoreceptores (sección de los nervios de Cyon y de Hering).

arterial del animal, presión que por lo general oscilaba entre 10 y 20 cm. Hg.

En la Fig. 2 se observa la respuesta presora a cinco infusiones sucesivas de líquido. Cada vez que se inyectaba un volumen de sangre igual al 0.5% del peso corporal se producía una elevación brusca de la presión arterial, cuya fase de ascenso correspondía al período de infusión. La presión descendía posteriormente, para estabilizarse en un nuevo nivel de presión. Cabe hacer notar que la magnitud de estos incrementos bruscos de presión disminuían en las infusiones sucesivas, o sea que, el incremento de presión era mayor cuando las presiones eran más bajas. Por otra parte, la presión de pulso (presión sistólica — presión diastólica) aumentaba progresivamente.

Después de la fase rápida de infusión y antes que se estabilizara la presión arterial en un nuevo nivel (Fig. 3) se observó un descenso y una elevación transitoria de la presión arterial. Esta respuesta "difásica" habla a favor de la intervención de un proceso activo en la redistribución de la sangre después de cada incremento de volumen. El alza brusca de presión puede producir una estimulación intensa de los presorreceptores que por vía refleja desencadenan una vasodilatación que facilita la salida de sangre del sistema arterial. A esta disminución momentánea de la resistencia periférica se debe la fase descendente, cuyo mínimo alcanzó un nivel inferior a los controles. Durante esta fase de descenso brusco de la presión, los presorreceptores son menos estimulados que normalmente, y en consecuencia el tonus del centro vasomotor tiende a aumentar. La vasoconstricción refleja que ahora se produce explica la segunda fase de este mecanismo de autorregulación, que se traduce en una elevación transitoria de la presión arterial.

Después de haber hecho una serie de infusiones de control en el animal anestesiado, se procedió a repetir estas infusiones después de haber inyectado una dosis alta de adrenalina por vía endovenosa (0.1 ml. de adrenalina al 0.1%).

En la Fig. 4 se observan las respuestas presoras sucesivas y en ellas se constata que los incrementos de presión no difieren con respecto a los normales; sin embargo, la fase descendente de la presión, una vez terminado el período de infusión, declina más lentamente que lo que se observa en los experimentos de control. Este descenso exponencial y retardado de la presión arterial significa que el proceso de redistribución de la sangre se realiza ahora más lentamente. En este caso debe pensarse que la lentitud de la descarga del sistema arterial es causada por un aumento permanente de la resistencia periférica.

A fin de estudiar la influencia que pudiera tener la autorregulación refleja de la presión arterial sobre la respuesta presora, se procedió a excluir los nervios frenadores de la presión en el conejo. Los mismos incrementos de volumen produjeron ahora respuestas presoras mucho mayores que en los animales con inervación presorreceptora intacta (Fig. 5). Si se comparan estadísticamente las respuestas presoras en los animales de control con aquellos con presorreceptores eliminados, se observa

que las respuestas presoras medias difieren significativamente (Fig. 6). Estas diferencias son altamente significativas ($D > 3$) en la mayoría de los casos, cualquiera que haya sido la altura de la presión diastólica de partida.

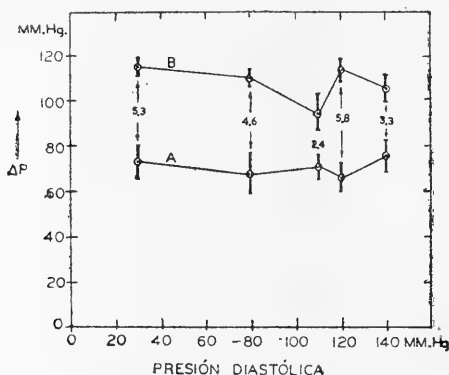


FIG. 6.—Incremento de presión (ordenadas) en función de la altura de la presión diastólica (abscisas).

A) conejos de control. B) conejos con los presoreceptores excluidos.

Las diferencias (D) son significativas cuando son mayores de 3.0.

En otra serie de experimentos, realizada en perros, se confirmaron los resultados anteriormente mencionados, estudiándose además en ellos la influencia de varios fármacos sobre las respuestas presoras. En la Fig. 7 se encuentran representados los resultados obtenidos en perros normales (controles) y en aquellos que habían recibido inmediatamente antes de las infusiones sucesivas una inyección de adrenalina (0.1 ml. de solución al 0.1% endovenosa) o de acetilcolina (20 a 40 mg. por vía subcutánea).

En los perros normales (control) el incremento de presión fué más o menos constante (22 a 30 mm. Hg). Después del efecto adrenalinico, las respuestas presoras eran por lo general superiores a los controles. Sin embargo, estas pequeñas diferencias no eran significativas. Tampoco en este caso se vió correlación entre las respuestas presoras y la altura de la presión diastólica, ya que los incrementos de presión oscilaron alrededor de los 35 mm. Hg. Aún con presiones diastólicas superiores a 200 mm. Hg. los incrementos de presión se mantuvieron a un mismo nivel. Después de la inyección de acetilcolina, que produjo hipotensiones que alcanzaron hasta 20 mm. Hg., los incrementos de presión fueron menores que habitualmente. Solamente a presiones mayores de 50 mm. Hg. los incrementos de presión, después de haber actuado la acetilcolina, se confundieron con los controles normales. En la parte superior de la Fig. 7 se han

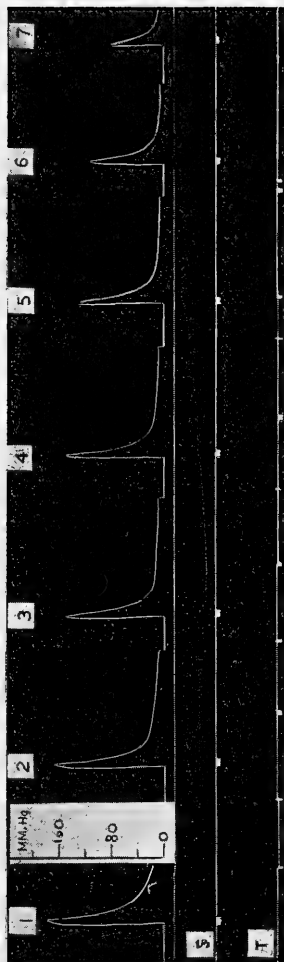


FIG. 8.—Registro de los incrementos de presión (post mortem) después de infusiones sucesivas. Experimentos realizados en conejos.

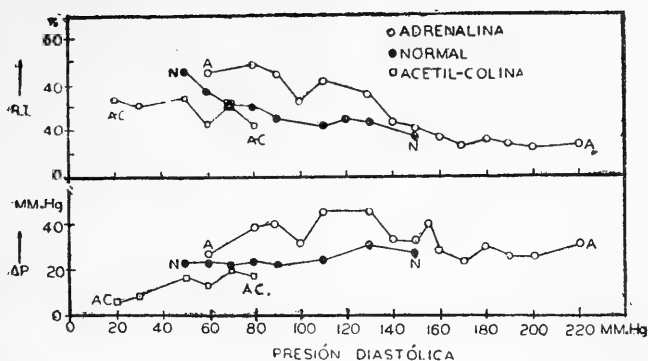


FIG. 7.—Incrementos de presión después de infusiones repetidas en el sistema arterial del perro.

Gráfico interior: Las ordenadas corresponden al incremento de presión en mm. Hg y las abscisas a la presión diastólica (mm. Hg). A = después de adrenalina; N = controles normales; A-C = después de acetilcolina.

Gráfico superior: Las ordenadas representan la reacción tensional (RT) expresadas en forma de porcentaje, y las abscisas corresponden a la presión diastólica (mm. Hg).

Cada punto del gráfico es el término medio aritmético de por lo menos cuatro observaciones.

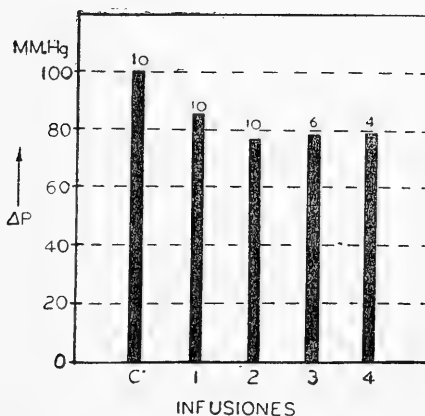


FIG. 9.—Respuestas presoras "post-mortem" en conejos.

Ordenadas: incremento de presión en porciento del valor control C (primer incremento de volumen). Las cifras que se encuentran por encima de cada columna representan el número de observaciones realizadas en cada caso.

representado las reacciones tensionales (incremento de presión/presión diastólica) de esta misma serie de experimentos. Se constata que la reacción tensional (RT) disminuye en todos los casos a medida que la presión diastólica se eleva.

Después de la muerte del animal de experimentación se repitieron las infusiones sucesivas, registrándose en cada caso los incrementos de presión correspondientes. Se observó (Fig. 8) que las infusiones producen ascensos muy marcados (hasta 160 mm. Hg.) de la presión en el sistema vascular. Estas alzas bruscas de la presión llegaron a un máximo, para descender exponencialmente hasta estabilizarse en un valor que osciló, alrededor de los 10 mm. Hg. Las infusiones sucesivas produjeron incrementos cada vez menores de la presión, como se desprende del estudio de los promedios representados en la Fig. 9. La amplitud de los incrementos de presión máxima descendieron en un 20%, si se compara la respuesta presora a la primera infusión de control (C), con las respuestas a las infusiones subsiguientes.

IV) DISCUSION

Durante el funcionamiento del aparato circulatorio existen ciertas presiones en el sistema arterial que dependen de la mantención de un equilibrio dinámico (steady state) entre el volumen de sangre que entra en la unidad de tiempo y el volumen que sale. Si en un momento dado (Fig. 10) se produce un incremento adicional del volumen (ΔV), el aumento de volumen del reservorio elástico arterial determinará un incremento de presión (ΔP). La magnitud de la respuesta presora (ΔP) dependerá de la relación entre el incremento de volumen (ΔV) y el volumen total (V) que en ese momento existe en el reservorio elástico arterial. Por otra parte, el incremento de presión (ΔP) será mayor o menor según sea la velocidad ($\Delta V / \Delta t$) con que este incremento de volumen se produce.

Si la infusión se hace a una velocidad reducida, el incremento de presión será mínimo, debido a que el volumen de líquido adicional puede salir del sistema arterial a la misma velocidad con que va penetrando en él (Entrada = Salida). No sucede lo mismo, si el incremento de volumen es casi instantáneo, ya que en este caso, el volumen adicional no alcanza a compensarse con la salida —que debería ser igualmente rápida— por el otro extremo del reservorio arterial. Cuando la entrada del líquido es mayor que la salida, se producirá un incremento de volumen y de presión, siempre que la fuerza impulsora de estos incrementos sea suficientemente grande.

Debido a las propiedades elásticas del reservorio arterial, el incremento de volumen (ΔV) determinará un aumento del volumen total de dicho reservorio (V), con el consiguiente aumento de tensión en las paredes arteriales. Esta tensión (T) se encuentra en equilibrio con la presión (P) que existe dentro del árbol arterial. Cuando el sistema arterial es elástico y la resistencia periférica es alta, el incremento de volumen es acomodo-

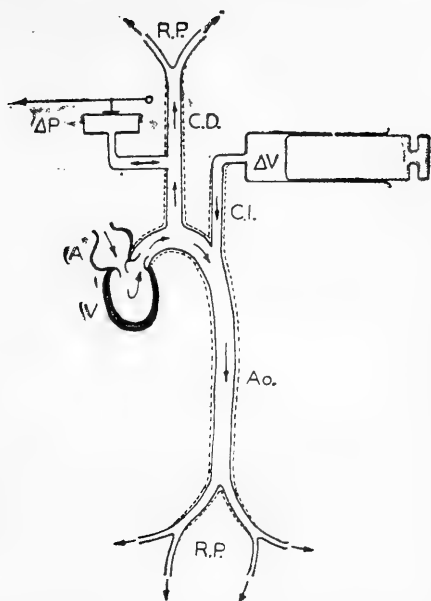


FIG. 10.—Esquema del sistema circulatorio en relación con los incrementos de volumen (ΔV) y de presión (ΔP). A = aurícula izquierda; V = ventrículo izquierdo. Ao = aorta. R.P. = resistencia periférica; C. D. = carótida derecha; C. I. = carótida izquierda.

dado en dicho reservorio, y en este caso se observa que el incremento de volumen alcanza un máximo antes que el incremento de presión. Este “desfasaje” ha sido estudiado detalladamente por **Shipley y col.** ⁽¹³⁾ en las condiciones fisiológicas, donde la descarga sistólica del ventrículo izquierdo produce un aumento del flujo que precede al máximo de presión. Si el sistema arterial es rígido, o la resistencia periférica es baja, el desfasaje entre el máximo de flujo y el máximo de presión desaparece. Por otra parte, estas relaciones de presión y flujo han sido analizadas y reproducidas por **Jochim** ⁽¹⁴⁾ en un modelo eléctrico. En el presente trabajo se registraron las respuestas presoras en un quimógrafo de alta velocidad y se estudió cuantitativamente el desfasaje entre los máximos de presión y flujo. Se observó que entre la terminación de la infusión y el momento en que se produce la presión más alta en el sistema arterial existía un intervalo de 0.127 ± 0.004 segundos. De las curvas presión/flujo de la arteria femoral del perro, originales de **Shipley y col.** ⁽¹³⁾ hemos podido calcular que el desfasaje flujo/presión en cada

descarga sistólica era alrededor de 0.06 segundos. La diferencia entre estos valores está dentro del margen de variación de las cifras individuales encontradas por nosotros, razón por la cual es probable que esta diferencia no sea significativa; más aún, si se toman en cuenta las diferencias de técnica de infusión (10% de volemia y descarga del volumen sistólico) y de registro (registro mecánico y registro óptico).

Es interesante analizar ahora los incrementos de presión que se producen durante las infusiones practicadas "post-mortem". En estos casos los incrementos de presión eran por lo general mucho mayores que "in vivo", sobre todo en las primeras infusiones. Estas respuestas exageradas sólo pueden explicarse como debidas a una intensa vasoconstricción, y a una disminución marcada del volumen (V) del reservorio elástico arterial. La vasoconstricción generalizada se confirma además por el descenso exponencial muy lento de la presión, una vez terminada la infusión (véase Fig. 8). Después de las primeras infusiones las respuestas presoras "post-mortem" disminuyeron, debido a que el lecho vascular se distendía progresivamente; incluso las arteriolas, que representan el factor más importante de la resistencia periférica.

El incremento progresivo de la presión de pulso (P. P.) después de cada infusión es un fenómeno que podría atribuirse a cuatro causas: 1º) a una disminución progresiva de la elasticidad arterial, 2º) a un incremento paulatino del volumen sistólico, 3º) a una vasodilatación cada vez mayor y 4º) a una disminución de la frecuencia cardíaca. De estas posibilidades podemos descartar la variación de frecuencia por cuanto ésta se mantuvo constante en las infusiones sucesivas. El posible aumento de la rigidez arterial se puede eliminar, ya que si este fenómeno se hubiese producido, las respuestas presoras deberían haber aumentado en infusiones sucesivas; salvo el caso que la autorregulación refleja fuese capaz de amortiguar estas alzas mediante una vasodilatación precoz. En cuanto a los dos factores restantes, o sea el aumento del volumen sistólico y la vasodilatación progresiva, es muy probable que ambos influyan en la mayor amplitud de la presión de pulso. La vasodilatación podría deberse a que los presorreceptores son estimulados cada vez más por la presión creciente en el sistema arterial, provocando de esta manera —por vía refleja— una disminución del tonus del centro vasomotor. El aumento del volumen sistólico puede atribuirse a una oferta cada vez mayor del corazón, debido al incremento progresivo de la volemia, ya que cada incremento de volumen correspondía a un 10% de la volemia calculada; por lo tanto, después de la 5ª ó 6ª infusión, tendremos una volemia que será 50 a 60% mayor que el valor inicial, antes de comenzar las series de infusiones.

En la Fig. 11 se han representado los incrementos progresivos de la presión de pulso (P. P.) en relación con la altura de la presión diastólica (P. D.). Se observó que después de cada incremento de volumen, esta relación aumenta exponencialmente.

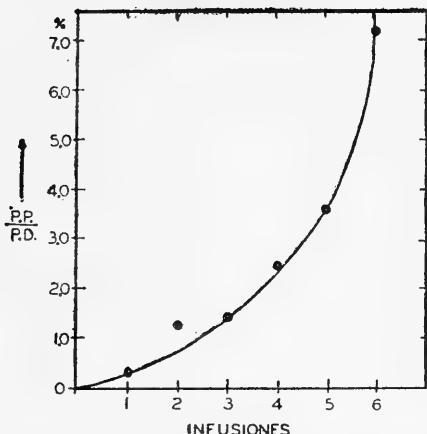


FIG. 11.—Aumento de la presión de pulso (P. P.) en función de la presión diastólica (P. D.) después de infusiones sucesivas.

Ordenadas: relación P. P./P. D., en %.

Abciscas: número de infusiones.

La exclusión de los nervios reguladores de la presión determinó una alza muy marcada de la respuesta presora, que fué significativamente diferente de los aumentos de presión en condiciones normales (véase Fig. 6). **Guyton y col.** ⁽¹⁰⁾ han encontrado que la exclusión de los nervios con terminaciones presorreceptoras (nervio de **Cyon** y de **Hering**) determinaba un aumento de las oscilaciones de la presión cuando se provocaban variaciones rítmicas del volumen de sangre en el sistema arterial.

Al calcular la reacción tensional (RT) de los incrementos de presión producida a diferentes niveles de presión diastólica, se constató (Fig. 7) que la reacción tensional disminuía progresivamente a medida que aumentaba la presión diastólica. Estos resultados fueron un tanto inesperados, por cuanto **Prochnik y col.** ⁽¹¹⁾ observaron que las respuestas presoras consecutivas a la oclusión bilateral carotídea, aumentaban casi linealmente en la zona comprendida entre 70-160 mm. Hg. La reacción tensional en el hombre normal e hipertenso es constante o aumenta a medida que se eleva la presión diastólica y sistólica; en tanto que en nuestra serie experimental se observó un descenso acentuado de la reacción tensional al pasar de los niveles de normotensión a los de hipertensión. Esta discrepancia entre los resultados experimentales obtenidos en los animales y las conclusiones que se desprenden de las mediciones practicadas en el hombre merece ser estudiada en el futuro.

RESUMEN

Se estudiaron, en perros y conejos, los aumentos de la presión arterial (respuestas presoras) consecutivos a incrementos de volumen provocados por una rápida infusión de sangre.

Las respuestas presoras a sucesivos incrementos de volumen —cada uno igual a un 10% de la volemia— eran de menor amplitud al aumentar la presión en el aparato circulatorio.

Los incrementos de presión que se provocaron después de la inyección de adrenalina o acetilcolina, no eran diferentes a las respuestas presoras de control.

La exclusión de los nervios frenadores de la presión (nervio de Cyon y de Hering del conejo) determinó un marcado aumento de las respuestas presoras, las que eran significativamente diferentes con respecto a los controles normales.

La presión de pulso (presión diferencial) aumentó después de cada infusión.

Cuando se repitieron las infusiones en condiciones "post-mortem", las alzas de presión fueron mucho mayores que "in vivo". También disminuyeron las respuestas presoras en los sucesivos incrementos de volumen.

Se discuten los resultados obtenidos en relación con los estudios sobre la reacción tensional realizados en el hombre normal e hipertenso.

SUMMARY

The increments of blood pressure following a rapid infusion of blood were studied in dogs and rabbits. The pressure increments after successive infusions, each one of 10% of the blood volume, became smaller as the blood pressure rose. No significant difference was observed in the magnitude of the pressure increments of the control group and the animals injected with adrenaline or acetylcholine. Pressure increments were significantly greater after exclusion of the aortic and carotid pressoreceptors.

Post mortem increments of blood pressure were greater than the "in vivo" responses to the same infusions. The "post-mortem" increments decreased after each volume increment of the arterial system.

ZUSAMMENFASSUNG

Nach einer schnellen Blutinfusion wurde der arterielle Blutdruckanstieg an Hunden und Kaninchen gemessen. Nach verschiedenen Blutinfusionen, jede gleich 10% des totalen Blutvolumens, wurde der Blutdruckanstieg geringer; während der arterielle Druck nach jeder Infusion sich erhöhte. Die Blutdruckanstiege nach Adrenalin oder acetylcholininjektion zeigten

keinen Unterschied im Vergleich mit den Kontrollversuchen. Nach Durchschneidung der Pressorezeptorenerven waren die Blutdruckanstiege grösser als normalerweise.

Die Druckanstiege "post-mortem" waren ausgeprägter als "in vivo", obwohl sie nach jeder Blutinfusion kleiner wurden.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—FIGUEROA, H.—Variabilidad de la presión arterial en relación con las pruebas presoras. Tesis Universidad de Chile, 1947.
- 2.—GÜNTHER, B., GARCIA CAMPO, M.—Rev. argent. Cardiol., 14: 308, 1947.
- 3.—GÜNTHER, B., GARCIA CAMPO, M.—Rev. argent. Cardiol., 15: 53, 1948.
- 4.—GÜNTHER, B., GARCIA CAMPO, M.—Rev. argent. Cardiol., 16: 170, 1949.
- 5.—HINES, E. A., BROWN, G. E.—Proc. Staff Meet. Mayo Clin., 7: 332, 1932.
- 6.—HALLOCK, P., BENSON, J. C.—J. Clin. Invest., 16: 595, 1937.
- 7.—BAZETT, H. C.—The peripheral circulation. Ann. Rev. Physiol., 1: 163, 1939.
- 8.—REMINGTON, J. M., NOBACK, C. R., HAMILTON, W. F., GOLD, J. J.—Amer. J. Physiol., 153: 298, 1948.
- 9.—GÜNTHER, B.—Fisiopatología Humana. Universidad de Concepción. Concepción (Chile). 1950, p. 232.
- 10.—GUYTON, A. C., BATSON, H. M., SMITH, C. M., ARMSTRONG, G. G.—Amer. J. Physiol., 164: 360, 1951.
- 11.—PROCHNIK, G., MAISON, G. L., STUTZMAN, J. W.—Amer. J. Physiol., 162: 553, 1950.
- 12.—BRODY, S.—Bioenergetics and Growth. New York, Reinhold, Publ. Co. 1945, p. 593.
- 13.—SHIPLEY, R. E., GREGG, D. E., SCHROEDER, E. F.—Amer. J. Physiol., 138: 718, 1942.
- 14.—JOCHIM, K. E.—Federation Proc., 10: 70, 1951.

Un sencillo microrespirómetro volumétrico diferencial

(Con 4 figuras)

B. Günther y J. Concha

Los micrométodos gasométricos utilizados en la actualidad se basan en dos principios: a) manométrico y b) volumétrico*.

El respirómetro manométrico de volumen constante de **Warburg** ⁽¹⁵⁾ y el respirómetro manométrico diferencial de **Barcroft** ⁽¹⁾ pertenecen a la primera categoría.

En el principio "volumétrico" se fundan varios microrespirómetros, en los cuales los gases son mantenidos a temperatura y presión constantes y los cambios de volumen son medidos directamente. La gran mayoría de los microrespirómetros se basan en el "principio de compensación" ideado por **Pettersson** ⁽⁶⁾. Este autor describió en 1886 un aparato gasométrico para el análisis químico del aire, que posteriormente fué modificado por **Sondén** ⁽¹²⁾ y utilizado por **Sondén** y **Tigerstedt** ⁽¹³⁾ para la determinación del metabolismo humano.

Es a **Thunberg** ⁽¹⁴⁾ a quien se debe la aplicación del "principio de compensación" en la construcción de microrespirómetros. Estos constan fundamentalmente de dos pequeñas cámaras, unidas entre sí por un tubo capilar. En una de las cámaras, la de respiración, se coloca el material biológico a examinar —en un medio fisiológico adecuado— así como el reactivo destinado a absorber ciertos gases. En la otra cámara, la de compensación, se encuentra sólo el reactivo y el medio fisiológico. El tubo capilar contiene una gota de líquido indicador, cuyo desplazamiento es medido en función del tiempo.

Numerosos autores han descrito microrespirómetros que se basan en el modelo original de **Thunberg** ⁽¹⁴⁾, tal como el de **Winterstein** ⁽¹⁷⁾, de **Widmark** ⁽¹⁶⁾, de **Fenn** ⁽⁵⁾, de **Gerard** y **Hartline** ⁽⁸⁾, hasta los recientes aparatos de **Cunningham**, **Kirk** y col. ^(3, 2, 11, 4) y de **Scholander** y col. ⁽¹⁰⁾.

* Para mayores detalles sobre métodos de microrespirometría en general, consúltese la monografía de J. M. Tobias: *Microrespiration Techniques*. *Physiol. Rev.* 23: 51, 1943.

Las ventajas de los microrespirómetros volumétricos⁽⁸⁾, en comparación con los que se basan en el método manométrico antes mencionado, pueden resumirse como sigue:

1) La teoría en que se fundan es muy sencilla.
2) No es necesario calcular la "constante" de las cámaras de medición, como debe hacerse con los microrespirómetros manométricos.

3) Se calibra solamente el dispositivo que sirve para medir los volúmenes. Esta calibración es de fácil ejecución.

4) Se pueden usar cámaras de diversos tamaños, sin necesidad de tenerlas que calibrar cada vez.

5) Estos microrespirómetros son insensibles a los cambios de presión barométrica, de temperatura y de humedad. Por esta razón la termoregulación que se requiere puede ser menos precisa.

6) La presión parcial de oxígeno en las cámaras de respiración se mantiene prácticamente constante; en tanto que la presión parcial del anhídrido carbónico es cercana a cero, siempre que exista una eficiente absorción de este gas (exceso de KOH).

7) La construcción de estos microrespirómetros es en algunos casos sencilla y su costo relativamente bajo.

La sensibilidad de los microrespirómetros que utilizan un capilar como sistema de medida volumétrica puede variar en amplio margen; ella será tanto mayor:

- a) cuanto menor sea el diámetro del capilar de medida.
- b) cuanto menos denso sea el líquido que constituye la gota indicadora.
- c) cuanto más pequeña sea la cámara de respiración.
- d) cuanto mayor sea el volumen de la cámara de compensación.

MATERIAL

El microrespirómetro consta de un tubo capilar de aproximadamente 10 cm. de largo, cuyo lumen puede oscilar entre 0.1 y 1.0 mm. de diámetro; de preferencia hemos utilizado capilares de 0.45 mm. de diámetro. El capilar es fijado entonces a una regla graduada, de manera que la escala milimétrica queda frente al lumen del capilar (Fig. 1a).

En los extremos del capilar se colocan dos tubos de vidrio, de iguales dimensiones y de vidrio de la misma calidad. De este modo se consigue una mayor estabilidad térmica del instrumento. Ambos tubos son ocluidos por tapones de goma; uno de ellos deja pasar una aguja hipodérmica, cerrada en un extremo, que tiene un pequeño orificio lateral y cuya función es la de establecer el contacto con la atmósfera (Fig. 1a).

Con fines especiales hemos construido cámaras de respiración de volumen muy reducido (Fig. 1b) y otras apropiadas para el estudio de tejidos especiales como por ejemplo el nervio aislado (Fig. 1c).

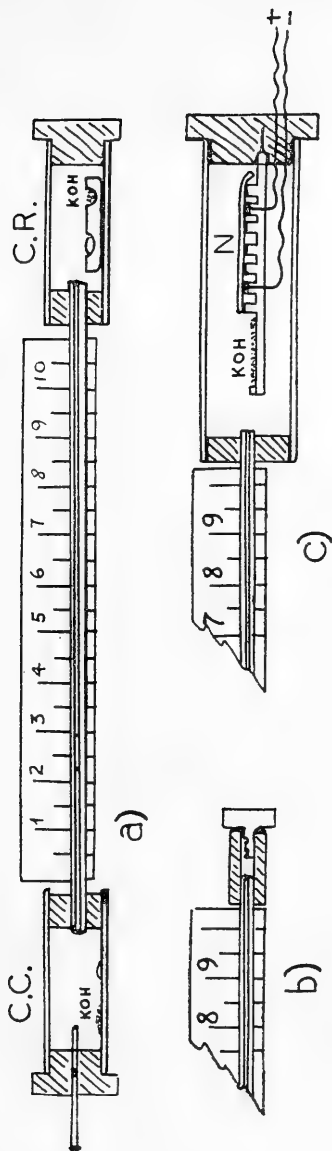


FIGURA 1.

a) Detalles de la construcción del microrespiómetro diferencial, que consta de las cámaras de respiración (C.R.), de compensación (C.C) y del tubo capilar con su escala milimétrica adjunta.

b) Cámara de respiración de muy pequeña capacidad, que está formada por un tubo de lygon y de un tapón de lúta, en el cual se encuentran las fosetas para colocar la gota de muestra y la gota del absorbente del CO_2 .

c) Cámara de respiración de un microrespiómetro para el estudio del consumo de oxígeno del nervio aislado (N), con sus electrodos de estimulación y el depósito de absorción del anhídrido carbónico (KOH).

CALIBRACION

El tubo capilar, rigurosamente limpio, debe calibrarse con exactitud. Para ello se introduce en su lumen una gota de mercurio; se mide la longitud de la gota en varios sectores del capilar, por medio de un tornillo micrométrico; se pesa el Hg. y se calcula el diámetro del tubo, tomando en cuenta el peso específico del mercurio a la temperatura en que se hizo la determinación.

Algunos autores (⁷) recomiendan la calibración por medio del desprendimiento de gas de una reacción química cuantitativamente conocida.

METODO DE MEDIDA

Con una pipeta se introduce en el lumen del capilar una gota del líquido indicador. Se recomienda keroseno purificado y destilado según las indicaciones de **Kirk** (⁷).

En una de las cámaras, la de respiración, se introduce el material biológico a examinar y un trocito de papel filtro impregnado con una o varias gotas de KOH al 5%. El material biológico, así como el reactivo para la absorción del CO₂, se colocan en pequeñas cubetas de vidrio o de material plástico (lucita), que se confeccionan según las conveniencias de cada caso particular (véase Fig. 1a).

En la cámara de compensación se pone la misma cantidad de KOH al 5% e igual volumen del medio fisiológico que el utilizado en la cámara de respiración. Una vez que ambas cámaras están cargadas, se excluyen éstas de la atmósfera por medio de tapones adecuados, dejando sólo la cámara de compensación en contacto con el aire atmosférico por medio de la aguja hipodérmica especial. A los 15 minutos aproximadamente se introduce más dicha aguja en el tapón, a fin de ocluir totalmente el orificio lateral. En este momento ambas cámaras quedan excluidas de la atmósfera y las variaciones de la presión barométrica no podrán influir en el transcurso del experimento.

Dada la gran sensibilidad de este microrespirómetro a las repentinas variaciones de temperatura, las lecturas de la posición de la gota indicadora deben hacerse a cierta distancia, para lo cual se puede utilizar una lupa. Se evita la influencia de las radiaciones calóricas de la mano o de la cara del observador, encerrando al microrespirómetro en una caja de cobre que tenga una ranura en la tapa para poder hacer las lecturas periódicas en el capilar de medida.

Tomando ciertas precauciones es posible trabajar con este microrespirómetro a cualquier temperatura, siempre que ésta sea uniforme o que ambas cámaras estén expuestas simultáneamente a dichas variaciones. Un calentamiento o enfriamiento asimétrico del microrespirómetro producirá un desplazamiento de la gota indicadora fuera de la escala del capilar, inutilizando por lo tanto al experimento en marcha.

Todos los volúmenes de gases, expresados en microlitros (μl), son reducidos a 0°C , a 760 mm. Hg. y a las condiciones de sequedad (SPTD).

ALGUNAS APLICACIONES

Este microrespirómetro volumétrico tiene las mismas posibilidades de uso que todos los demás instrumentos que se han construido con ese fin. Dado que la sensibilidad del respirómetro depende del diámetro del capilar de medida, ésta se puede variar de acuerdo con la intensidad de la respiración del tejido que se desea estudiar.

Con un respirómetro cuyo capilar tenía sólo 0.1 mm. de diámetro se determinó el consumo de O_2 de un pequeño fragmento de pétalo de geranio (Fig. 2). El control (C), sin el material biológico en la cámara de respiración, dió lecturas constantes durante el transcurso del experimento.

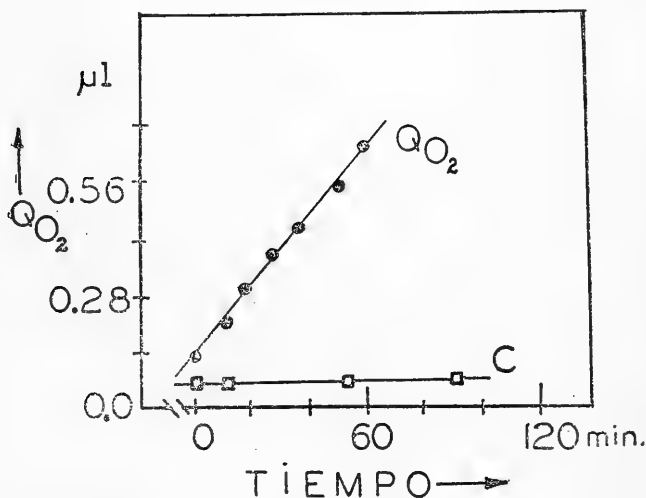


FIGURA 2.

Consumo de oxígeno (QO_2) de un fragmento de pétalo de geranio, en comparación con el control (C).

Ordenadas: Consumo de oxígeno en microlitros (μl).

Abcisas: Tiempo en minutos (Min.).

En otro microrespirómetro se colocó un trozo de músculo sartorio de sapo. El consumo de O_2 en reposo se pudo determi-

nar durante varias horas (Fig. 3), utilizando en este caso un tubo capilar de 0.45 mm. de diámetro.

La respiración del nervio ciático de sapo se estudió en reposo y después de la estimulación eléctrica (132 c/s), que se man-

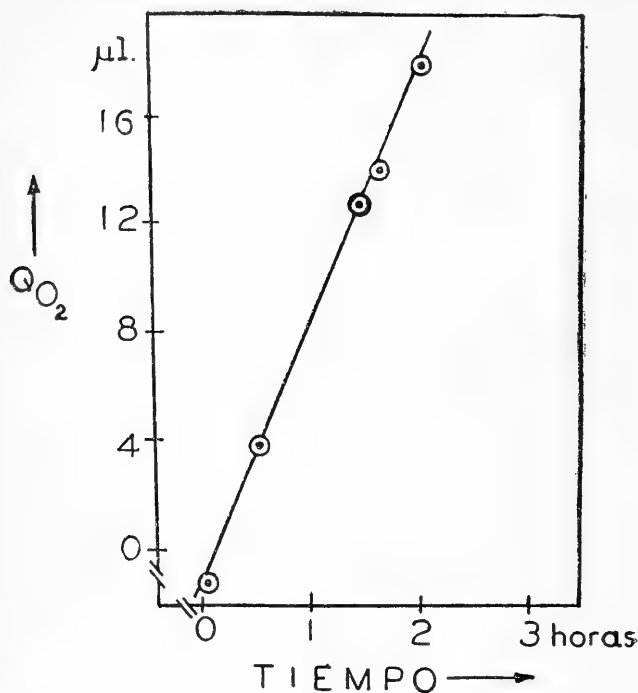


FIGURA 3.

Consumo de oxígeno de un trozo de músculo sartorio de sapo.

tuvo por varias horas. El consumo de oxígeno se intensifica apreciablemente durante el período de estimulación (Fig. 4).

Entre otras posibilidades hemos ensayado con éxito la medición de la respiración: a) en cultivo de gérmenes (bacilo subtile); b) en suspensiones de células de levadura; c) en pétalos de diversas flores; d) en glóbulos rojos; e) en pequeños insectos.

La simplicidad de su construcción y manejo, su bajo costo, su gran sensibilidad y adecuada estabilidad térmica, permite adaptar el microrespirómetro volumétrico diferencial tanto a los fines de la enseñanza como de la investigación.

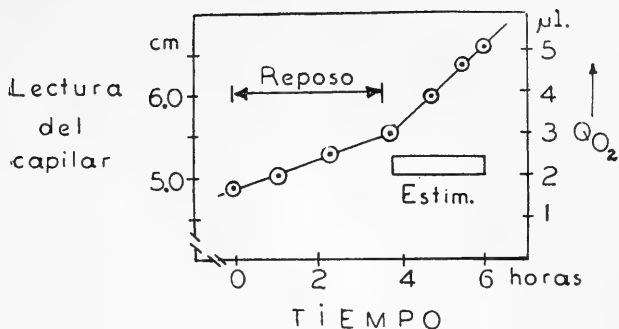


FIGURA 4.

Consumo de oxígeno de un trozo de nervio ciático de sapo, en reposo y durante la estimulación eléctrica con una corriente de 132 estímulos por segundo.

Ordenadas a la izquierda: Lectura directa del desplazamiento de la gota indicadora en el capilar, expresada en centímetros.

Ordenadas a la derecha: Consumo de oxígeno (Q_{O_2}) en microlitros ($\mu\text{l.}$).

Abscisas: Tiempo en horas.

RESUMEN

Se describe un microrespirómetro volumétrico diferencial basado en el "principio de compensación" de **Pettersson-Thunberg**. La construcción es simple y sólo se utilizan materiales de que se dispone habitualmente en los laboratorios. Son descritas algunas aplicaciones biológicas de este microrespirómetro.

SUMMARY

A volumetric microrespirometer based on the **Pettersson-Thunberg** compensation principle is described. The construction is simple and the materials used are available in each laboratory. Various biological applications of the microrespirometer are shown.

ZUSAMMENFASSUNG

Ein volumetrischer Mikrorespirometer wird beschrieben, der auf dem Kompensationsprinzip von **Pettersson-Thunberg** beruht. Die Konstruktion ist einfach und das Material das dazu benutzt wird ist in jedem Laboratorium vorhanden. Einige biologische Anwendungen dieses Mikrorespirometers werden gezeigt.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—BARCROFT, J.—J. Physiol., 37: 12, 1908.
 - 2.—BARTH, L. C., KIRK, P. L.—J. Gen. Physiol., 25: 663, 1941/42.
 - 3.—CUNNINGHAM, B., KIRK, P. L.—J. Gen. Physiol., 24: 135, 1940.
 - 4.—ENTNER, N., KIRK, P. L.—J. Gen. Physiol., 34: 431, 1951.
 - 5.—FENN, W. O.—Amer. J. Physiol., 80: 327, 1928.
 - 6.—GERARD, R. W., HARTLINE, K.—J. Cell. Comp. Physiol., 4: 141, 1934.
 - 7.—KIRK, P. L.—Quantitative Ultramicroanalysis. John Wiley & Sons, Inc. New York, 1950. p. 237.
 - 8.—Manometric Techniques and Tissue Metabolism (W. W. Umbreit, Edit.) Burgess Publ. Co., Minneapolis, 1949. p. 97.
 - 9.—PETTERSSON, O.—Z. anal. Chem. 25: 467, 1886.
 - 10.—SCHOLANDER, P. F., CLAFF, C. L., ANDREWS, J. R., WALLACH, D. F.—J. Gen. Physiol., 35: 375, 1951.
 - 11.—STERN, H., KIRK, P. L.—J. Gen. Physiol., 31: 239, 1948.
 - 12.—SONDEN, K.—Z. anal. Chem., 26: 592, 1887.
 - 13.—SONDEN, K., TIGERSTEDT, B.—Skand. Arch. Physiol., 6: 1, 1895.
 - 14.—THUNBERG, T.—Skand. Arch. Physiol., 17: 74, 1905.
 - 15.—WARBURG, O.—Biochem. Z., 142: 317, 1923.
 - 16.—WIDMARK, E. M. P.—Skand. Arch. Physiol., 24: 321, 1911.
 - 17.—WINTERSTEIN, H.—Zbl. f. Physiol., 20: 41, 1906.
-

Acomodación del músculo normal y denervado de rata. Acción de algunos anestésicos generales

(Con 3 tablas)

por

E. Mena y J. Concha

La acción de los anestésicos sobre los parámetros de la excitabilidad neuromuscular ha sido poco estudiada, no obstante que la anestesia es un procedimiento de amplia repercusión en Medicina.

El primero que se ocupó de este tema fué **Rizzolo** ⁽¹⁾, quien encontró que la cocaína al 2% y la morfina al 1% no modificaban la cronaxia de las raíces ventrales de la médula espinal del "Scylliorhinus canícula".

Las investigaciones de **Schriever** y **Ehrhardt** ⁽²⁾, efectuadas en nervios de rana "in vitro", revelaron que los anestésicos generales (éter, cloroformo y uretano) producen un aumento de la acomodación y una disminución de la cronaxia.

Heinbecker ⁽³⁾ analizó la influencia del éter y del nembutal sobre el sistema nervioso en general, encontrando que el éter produce un aumento marcado de la acomodación, en tanto que el nembutal la reduce levemente. **Cicardo** y **Bremier** ⁽⁴⁾ en cambio no observaron un efecto del nembutal sobre la cronaxia del nervio de cobayo "in situ".

Los trabajos antes mencionados tienen el inconveniente que han sido efectuados en preparaciones neuromusculares "in vitro", salvo el de **Cicardo** y **Bremier** ⁽⁴⁾ que sólo se refiere al efecto del nembutal.

Parrack ⁽⁵⁾ y **Le Fèvre** ⁽⁶⁾ observaron en el nervio una acomodación negativa cuando el electrodo diferente era el anodo y una acomodación positiva cuando el electrodo era el cátodo. Como no encontráramos trabajos referentes a la influencia de la polaridad sobre el músculo, decidimos extender nuestras mediciones a los músculos normales y a los privados de su inervación.

II) MATERIAL Y METODOS

En el presente trabajo se utilizaron 65 ratas blancas. En 54 de ellas se practicó la sección del ciático correspondiente a una de las extremidades inferiores, quedando el lado opuesto como control. La técnica detallada ha sido descrita en un trabajo anterior (**Parada**) (³).

La acomodación se midió determinando el "índice de acomodación", utilizando la misma técnica que en trabajos anteriores (³). Este índice se determina mediante dos corrientes exponenciales, producidas por un estimulador eléctrico especial (⁵). La primera corriente exponencial (E_1) llega a su valor máximo a los 15 milisegundos (ms) y la segunda (E_2) alcanza a su intensidad máxima a los 30 ms. En cuanto a los voltajes

máximos, la relación $\frac{E_2}{E_1}$ es de 0.625.

En las ratas cuyo nervio ciático había sido seccionado se controló la evolución de la denervación mediante el índice de acomodación. Una vez obtenida la denervación total, la que se alcanzó por lo general a los 23 días después de la operación, se comenzó a estudiar la influencia de los siguientes anestésicos generales: éter, hidrato de cloral, uretano, barbitúricos (nembutal y seconal), alcohol y clorhidrato de morfina. Estas sustancias fueron inyectadas en el peritoneo; a excepción del éter que fué administrado por inhalación. Las dosis empleadas fueron las siguientes: hidrato de cloral 300 mg/Kg; nembutal 20 mg/Kg; seconal 40 mg/Kg; clorhidrato de morfina 9 mg/Kg; alcohol 300 mg/Kg, y uretano 1.0 g/Kg.

Las mediciones en el músculo se hicieron por estimulación directa de éste. El electrodo diferente estaba constituido por una aguja de acero inoxidable insertada en el músculo; el electrodo indiferente por una placa metálica de gran superficie, colocada sobre la piel del abdomen. Para la medición de la acomodación en el nervio ciático se utilizó un electrodo bipolar, que se colocó en contacto con el nervio. Este trozo de nervio se cubrió con algodón humedecido en solución de Ringer, a fin de mantenerlo en una atmósfera húmeda. El cátodo se colocó siempre en posición proximal con respecto al músculo, salvo en los casos en que se estudió la acción de la polaridad sobre la acomodación.

III) RESULTADOS EXPERIMENTALES

1) Mediciones del índice de acomodación y de los umbrales en el "músculo normal"

Los resultados obtenidos aparecen condensados en la Tabla 1a.

T A B L A N° 1a

Influencia de los anestésicos sobre los umbrales e índices de acomodación del músculo normal de la rata.

SERIE	MUSCULO NORMAL						
	UMBRALES				INDICES DE ACOMODACION		
		TM	Error Standard +	P*	TM	Error Standard +	P*
1	Control	163	± 26.6	> .05	1.53	± 0.04	> .05
	Eter	153	± 17.1		1.59	± 0.01	
2	Control	178	± 17.3	> .05	1.51	± 0.02	> .05
	Morfina	154	± 14.0		1.50	± 0.02	
3	Control	97	± 4.9	> .042	1.45	± 0.016	> .05
	Alcohol	81	± 3.2		1.43	± 0.01	
4	Control	172	± 9.9	> .05	1.49	± 0.05	< .01
	Cloral	132	± 33.9		1.17	± 0.01	
5	Control	97	± 8.6	> .05	1.50	± 0.02	< .01
	Uretano	90	± 8.25		1.19	± 0.01	
6	Control	101	± 6.45	< .01	1.54	± 0.03	< .01
	Seconal	63	± 5.1		1.18	± 0.04	

TM = Término medio aritmético

+ = Error Standard = $\sqrt{\frac{\sum d^2}{n(n-1)}}$

* = "P" calculado según Fisher

a) **Acción del éter.**—Durante la anestesia profunda con éter se observa que el índice de acomodación, que en la serie de control (sin anestésico) tenía un valor de 1.53 ± 0.04 , bajo la acción del éter alcanza un valor de 1.59 ± 0.01 . Esta diferencia no es significativa ($P > 0.05$) *.

Las mediciones de los umbrales dieron un valor de 163 ± 26.6 microamperes (μA) para los controles y de $153 \pm 17 \mu A$ para el animal anestesiado. Esta diferencia tampoco es significativa.

b) **Acción de la morfina.**—Después de la inyección intraperitoneal de la morfina no varió el índice de acomodación en forma significativa. El índice de control fué de 1.51 ± 0.02 y el obtenido después de inyectar la morfina fué de 1.50 ± 0.02 ($P > 0.05$).

En cuanto a los umbrales, el descenso en la serie con morfina es ocasional ($P > 0.05$).

* Los cálculos estadísticos se realizaron según Fisher.

c) **Acción del alcohol.**—Esta sustancia, inyectada en solución al 30% y en la dosis de 300 mg/Kg de peso, produce una anestesia marcada. Sin embargo no se altera el índice de acomodación en forma significativa. El valor del índice en la serie de control fué de 1.45 ± 0.016 . Este índice bajo a 1.43 ± 0.01 después de inyectar alcohol ($P > 0.05$).

El umbral descendió de un valor de $97 \pm 4.9 \mu A$ a $81 \pm 3.2 \mu A$, descenso que no da una diferencia significativa.

d) **Acción del cloral.**—En dosis anestésica produce una disminución notable del índice de acomodación, descenso que alcanza a un 21.5% del valor control (1.49 ± 0.05). El descenso del índice de acomodación es significativo ($P > 0.01$).

El umbral no varía en forma significativa, a pesar del descenso de $172 \pm 9.9 \mu A$ (valor control) a $132 \pm 33.9 \mu A$ ($P > 0.05$).

e) **Acción del uretano.**—En dosis de 1 g/Kg de peso (dosis anestésica) produce un marcado descenso del índice de acomodación; de un valor que tenía en los controles del 1.50 ± 0.02 alcanza en los animales inyectados un valor de 1.19 ± 0.01 .

En cuanto a los umbrales no se observó variación alguna.

f) **Acción seconal.**—Esta sustancia, inyectada en dosis anestésicas, produce un gran descenso de la acomodación del músculo; de 1.54 ± 0.03 bajó a 1.18 ± 0.04 . Este descenso (23.5%) es significativo ($P > 0.01$).

Los umbrales en los controles eran de $101 \pm 6.5 \mu A$. Después de la inyección de seconal bajaron a $63 \pm 5.1 \mu A$. Esta diferencia es significativa ($P > 0.01$).

2) Mediciones de los umbrales y del índice de acomodación en el "músculo denervado"

Como puede apreciarse en la Tabla 1b, los anestésicos carecen de acción sobre el músculo denervado. El índice de acomodación en todo momento se mantuvo alrededor de 1.0. Sin embargo, los umbrales se alteraron en forma significativa bajo la acción del seconal y del uretano, observándose en ambos casos un descenso notorio de ellos.

3) Mediciones del índice de acomodación y de los umbrales en el "nervio ciático"

Los resultados aparecen condensados en la Tabla 2.

a) **Acción del éter.**—Las mediciones del índice de acomodación en el nervio bajo anestesia etérea dieron un valor de 2.72 ± 0.05 . Este índice experimentó un descenso de su valor a 2.52 ± 0.06 después de 15 minutos de anestesia profunda con la misma sustancia. Este descenso no es estadísticamente significativo.

T A B L A N° 1b

Influencia de los anestésicos sobre los umbrales e índices de acomodación del músculo denervado de la rata.

SERIE	MUSCULO DENERVADO						
	UMBRALES				INDICES DE ACOMODACION		
		TM	Error Standard	P	TM	Error Standard	P
1	Control	116	± 15.0	> .05	1.0	± 0.00	> .05
	Eter	127	± 13.4		1.0	± 0.00	
2	Control	85	± 8.0	> .05	1.0	± 0.00	> .05
	Morfina	73	± 8.9		1.0	± 0.00	
3	Control	69	± 5.0	> .05	1.0	± 0.00	> .05
	Alcohol	56	± 4.7		1.0	± 0.00	
4	Control	48	± 5.1	> .05	1.0	± 0.00	> .05
	Cloral	58	± 5.6		1.0	± 0.00	
5	Control	70	± 5.0	< .01	1.0	± 0.00	> .05
	Uretano	45	± 4.4		1.0	± 0.0	
6	Control	67	± 5.7	< .01	1.0	± 0.00	> .05
	Seconal	39	± 2.21		1.0	± 0.00	

T A B L A N° 2

Índices de acomodación y umbrales en el nervio ciático de la rata.

UMBRALES (μA)				INDICES (E_2/E_1)		
Anestésico	Término Medio	Error Standard	P	Término Medio	Error Standard	P
Control (anest. general éter)	700	± 45.5	> .05	2.72	± 0.05	> .035
Anestesia con éter, después 15'	664	± 54.0		2.52	± 0.06	
Control (anest. general éter)	393	± 59.0	> .05	2.59	± 0.06	< .01
Seconal después 15'	275	± 48.0		1.63	± 0.05	
Control (anest. general éter)	379	± 58.3	> .05	2.71	± 0.05	< .01
Nembutal 15' después	421	± 76.6		2.39	± 0.05	

Los valores de los umbrales fueron de $700 \pm 45.5 \mu A$ en la primera medición y de $664 \pm \mu A$ en la segunda medición hecha 15 minutos después. Este descenso del umbral no es significativo.

b) **Acción del seconal.**—Esta sustancia, inyectada en dosis anestésica, produjo un descenso del índice de acomodación. Su valor control, bajo anestesia etérea, fué de 2.59 ± 0.06 y bajo la acción del seconal descendió a 1.63 ± 0.05 ; diferencia que es estadísticamente significativa.

Los umbrales tuvieron un valor de $393 \pm 59 \mu A$ para la medición de control y de $275 \pm 48 \mu A$ para la medición bajo la acción del seconal. La diferencia de estos términos medios no es significativa.

c) **Acción del nembutal.**—Por acción de esta sustancia se produjo un descenso del índice de un valor control de 2.71 ± 0.05 a 2.39 ± 0.05 , lo que da una diferencia significativa.

Los umbrales variaron de $379 \pm 58 \mu A$ bajo anestesia etérea a $421 \pm 76.6 \mu A$ por efecto del nembutal. Este cambio no da una diferencia significativa.

4) Influencia de la polaridad sobre los índices de acomodación del nervio ciático y del músculo normal y denervado de rata

Los resultados experimentales se encuentran resumidos en la Tabla Nº 3.

a) **Influencia de la polaridad sobre el índice de acomodación del nervio ciático.**—El valor del índice de acomodación (E_2/E_1) del nervio ciático, estando el cátodo en posición proximal con respecto al músculo, fué de 2.57 ± 0.044 , valor que descendió en forma significativa ($P > 0.01$) cuando la estimula-

T A B L A N° 3

Influencia de la polaridad sobre los índices de acomodación del nervio ciático del músculo normal de la rata.

NERVIO CIATICO				MUSCULO NORMAL		
Polo proximal	Término Medio	Error Standard	P	Término Medio	Error Standard	P
Cátodo	2.57	± 0.044	< .01	1.49	± 0.014	> .05
Anodo	1.45	± 0.10		1.51	± 0.016	

ción se practicó con el ánodo proximal, obteniéndose en este caso un valor de 1.45 ± 0.10 .

b) Influencia de la polaridad sobre el índice del músculo normal.—Las mediciones del índice (E_2/E_1) efectuadas en el músculo normal no demostraron la existencia de una diferencia significativa.

c) Influencia de la polaridad sobre el índice del músculo denervado.—El índice de acomodación del músculo denervado no varió al estimular con el ánodo o con el cátodo y los valores promedios del índice se mantuvieron constantes en 1.0.

DISCUSION

En el presente trabajo se encontró, que sólo algunos anestésicos generales poseen alguna acción sobre la excitabilidad (umbral y acomodación) de los nervios periféricos y de la musculatura esquelética. Este resultado inesperado puede atribuirse a que la metodología utilizada por nosotros sólo es capaz de medir ciertas características de la excitabilidad neuromuscular y que por otra parte la acción de los anestésicos generales podría estar limitada a ciertos sectores o a determinadas estructuras en el sistema nervioso central y periférico.

En cuanto a los umbrales, solamente la anestesia por seconal produjo un descenso significativo de ellos, tanto en el músculo normal como en el denervado. En este último, el uretano en dosis narcótica, ha sido capaz de reducir los umbrales de excitación.

En cuanto a la acomodación neuromuscular es interesante hacer notar que la morfina, el éter y el alcohol carecen de acción en este sentido. En cambio la anestesia por seconal, uretano y cloral reducen el índice de acomodación normal (1.50) a valores que oscilan entre 1.17 y 1.19. Estas diferencias son todas significativas (véase Tabla 1a). La acomodación muscular desciende a valores semejantes en el transcurso de la degeneración walleriana del nervio, antes de que éste llegue a la degeneración total. Estos cambios de la acomodación son propiamente musculares, dado que el nervio ciático normal de rata tiene normalmente un índice de acomodación que oscila entre 2.60 y 2.70 (véase Tabla 2). Es por esto que podemos suponer que durante la anestesia por seconal, uretano y cloral es probable que se produzcan alteraciones neuromusculares semejantes en su efecto a lo que se observa en la degeneración walleriana parcial.

En el músculo que ha sido privado de su inervación (degeneración walleriana completa del nervio correspondiente), no se alteró el índice de acomodación por la acción de los anestésicos. Este índice se mantuvo permanentemente en 1.0.

La excitabilidad nerviosa durante la anestesia con nembutal ha sido estudiada "in situ" por **Cicardo y Bremier** (1), quienes no encontraron una modificación de la cronaxia o de la reo-

base del nervio crural del cobayo en estas condiciones. Este resultado concuerda con los nuestros (véase Tabla 2) en lo que a reobase (umbral) se refiere; no así en cuanto a las características de la excitabilidad en función del tiempo. Estos autores encontraron que la cronaxia se mantuvo invariable, en tanto que en el presente trabajo la acomodación disminuyó en forma significativa (Tabla 2), lo que debería corresponder a un alargamiento pronunciado de la cronaxia.

Heinbecker y Bartley ⁽³⁾ han encontrado en el nervio aislado de rana que la acomodación, medida durante la aplicación de una corriente continua subumbral, aumentó bajo la acción del éter y disminuyó con el nembutal, efecto que era reversible después de lavar la preparación con solución de Ringer. Los umbrales de estimulación eran mayores que los controles cuando ambos anestésicos fueron aplicados directamente al nervio (éter al 3% en Ringer; nembutal al 10%). Nuestros resultados, obtenidos en nervios "in situ", no revelan un efecto sobre los umbrales; en cambio también hemos podido observar, que el nembutal reduce significativamente la acomodación (Tabla 2), mientras que el éter carece de acción. Estas divergencias podrían atribuirse a la gran concentración de éter y nembutal a que se expuso el nervio aislado en los estudios realizados por **Heinbecker y Bartley** ⁽³⁾.

Schriever y Ehrhardt ⁽⁸⁾ han publicado un extenso estudio de la excitabilidad del nervio de rana aislado bajo el efecto de diversos narcóticos. El éter, en una proporción de 1:2000 en Ringer, aumentó tanto la acomodación como los umbrales. En cambio en el nervio ciático de rata, la anestesia profunda con éter no ha alterado significativamente estos parámetros (véase Tabla 2).

En vista que no existe hasta el momento una teoría general de la narcosis que pudiera explicar satisfactoriamente los resultados experimentales antes mencionados, no es posible correlacionar los cambios del umbral y de la acomodación con las alteraciones físico-químicas que los anestésicos producen en las membranas celulares de los tejidos excitables y en el metabolismo intermediario de éstos. El único trabajo experimental que se refiere a los cambios físicos (impedancia) del músculo aislado expuesto a la acción de los narcóticos ha sido el de **Guttman** ⁽²⁾. Este autor encontró, que las resistencias de la membrana muscular primeramente aumentan para disminuir o desaparecer cuando la concentración del narcótico es suficientemente grande. La capacidad eléctrica de la membrana muscular no sufre alteración alguna por la acción de los anestésicos usados.

CONCLUSIONES

Se estudió la influencia de algunos anestésicos sobre la acomodación en el sistema neuromuscular de la rata. La acomodación muscular se modificó en forma significativa durante la anestesia con seconal, uretano o hidrato cloral. En el músculo

denervado ninguno de los anestésicos alteró el índice de acomodación, que se mantuvo constante alrededor de 1.0.

En el nervio ciático el índice de acomodación descendió significativamente cuando se usó como anestésico el seconal o el nembutal.

Se estudió el efecto de la polaridad sobre la acomodación del nervio ciático y se observó que cuando el anodo era el electrodo proximal, con respecto al músculo, el índice de acomodación presentó una marcada disminución.

SUMMARY

In rats, anesthetized with seconal urethane and chloral, the muscular accommodation to exponentially ascending currents decreases. The accommodation of the denervated muscles is not influenced by the above mentioned anesthetics.

The accommodation of the sciatic nerve of rats under seconal or nembutal anesthesia, falls markedly.

When the sciatic nerve is stimulated, with the anode proximal to the muscle, the accommodation diminishes.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Wirkung einiger Narkotika auf die Akkommodation von Nerven und Muskeln der Ratte wurde "in situ" untersucht. Die Muskelakkommodation veränderte sich während der Narkose mit Seconal, Urethan und Chloralhydrat.

Nach chronischer Nervendurchschneidung blieb die Akkommodation des Muskels konstant.

Am Nerven (Ischiadicus) hatte die Narkose mit Barbitursäurederivaten (Seconal, Nembutal) eine Reduktion der Akkommodation zur Folge.

Wenn die Anode proximal zum Muskel gelegen war und der Nerv gereizt wurde, so verringerte sich die Akkommodation. Das Gegenteil ereignete sich wenn die Kathode proximal zum Muskel angelegt wurde.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—CICARDO, V. H., BREMIER, R.—Compt. rend. Soc. Biol., París, 145: 590, 1951.
- 2.—GUTTMAN, R.—Am. J. Physiol., 126: 516 P., 1939.
- 3.—HEINBECKER, P., BARTLEY, H.—J. Neurophysiol., 3: 219, 1940.
- 4.—LE FÈVRE, P. G.—J. Gen. Physiol., 34: 19, 1950.
- 5.—PARADA, J.—Acomodación "Pre y post-mortem" en el músculo normal y denervado. Tesis de licenciatura en Medicina. Facultad de Biología y Ciencias Médicas. N° 37-I-1950-51.
- 6.—PARRACK, H. O.—Am. J. Physiol., 130: 481, 1940.
- 7.—RIZZOLO, A.—Compt. rend. Soc. Biol., París, 97: 1073, 1927.
- 8.—SCHRIEVER, H., EHRHARDT, H.—Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol., 242: 730, 1939.

Factores que influyen en la acción analgésica de la morfina y derivados

Influencia del Sistema Neuro-vegetativo

1.—Acción de fármacos parasimpaticolíticos

(Con 6 figuras)

por

**Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L.,
Abarca, B. F. (*)**

INTRODUCCION

La asociación frecuente de la morfina con cuerpos parasimpaticolíticos (P. S. L.), (1, 2, 3), han llevado a estudiar la acción que estas sustancias tienen sobre el efecto analgésico mismo de la morfina, es decir, que si junto al efecto benéfico de evitar algunas reacciones desagradables de este analgésico (4, 5, 6), el efecto sobre el dolor se atenúa o aumenta.

Es así como **Frommel**, indica la importancia del tonus parasimpático al extenderse en su hipótesis sobre el mecanismo de acción de la morfina (7), basándose en el hecho indicado por varios autores, que la Prostigmina y la Eserina potencian el efecto analgésico de la Morfina (8, 9, 10), y que por otra parte, según este autor la Atropina como la Efedrina disminuyen el efecto de un derivado de la Morfina, el Clorhidrato de Dehidromorfinona (Dilaudid), agregando que la Escopolamina actúa en igual forma.

Las relaciones entre el efecto analgésico de la Morfina asociada a la Atropina o Escopolamina, han sido objeto de numerosos estudios, los cuales, son contradictorios.

(*) Este trabajo ha sido auspiciado en parte por el Consejo de Investigación Científica de la Universidad de Concepción.

Algunas experiencias clínicas de **Gross y col.** ⁽¹¹⁾, parecen confirmar lo aseverado por **Frommel**.

Ciertos autores ^(12, 13, 14), manifiestan por el contrario que la Escopolamina aumenta el efecto narcótico de la Morfina y que esta acción se traduce en un efecto de potenciación, lo que han comprobado experimentalmente sin referirse en especial al efecto analgésico, ni indicar las técnicas utilizadas.

Ante esta diversidad de opiniones sobre los efectos de los **P. S. L.** sobre la analgesia, hemos creído conveniente estudiar la influencia de la Atropina, de la Escopolamina y de la Homatropina sobre la acción analgésica inducida por morfina.

Hemos empleado con este propósito, la Técnica del Calor Radiante, técnica cuyo mecanismo implica un reflejo medular y la Técnica de la Superficie Caliente en cuya respuesta deben intervenir formaciones nerviosas encefálicas.

De los resultados y conclusiones obtenidos con estas técnicas, damos cuenta en el presente trabajo.

METODICA

1.—Técnicas utilizadas

A.—Técnica de la Superficie Caliente.

Basándose en los trabajos de **Wolff, Mac Donald** y otros autores sobre la técnica de la Superficie Caliente ^(15, 16), montamos un método modificado que permite mayor comodidad y seguridad al investigador.

Nuestro método consiste esencialmente en un baño de temperatura constante, en la que introducimos una caja de cobre pulida en su fondo y posee una tapa de vidrio desmontable, un cronógrafo era puesto en marcha al colocar suavemente una laucha sobre la superficie caliente para ser detenido de acuerdo a las indicaciones de **Jacob y Szerb** ⁽¹⁷⁾, cuando la laucha se humedecía sus patas delanteras.

B.—Técnica del Calor Radiante.

La respuesta al afecto de un rayo calórico controlado, enfocado en la porción terminal de la cola de lauchas normales, ofrece un método cuantitativo para la determinación de las respuestas a estímulos nociceptivos.

El método empleado, combina algunos rasgos de la técnica de **Hardy-Wolff-Goodell, Thorp** y **D'Amour-Smith** ^(18, 19, 20), con algunas modificaciones.

2.—Animales empleados

A.—Condiciones de su uso.

Por ser las lauchas blancas muy apropiadas para los estudios analgesiométricos, empleamos estos animales en ambas

técnicas, utilizando exclusivamente hembras, las que se obtenían de un stock uniforme y suficiente, pertenecientes a una misma cepa cuyas edades fluctuaban entre 7 y 10 semanas y un peso entre 17 y 25 gramos.

Tuvimos cuidado de evitar diversos factores que alteran notablemente la reactividad de los animales, como son los ruidos fuertes, la excitación, las alteraciones atmosféricas, etc.

3.—Soluciones empleadas

Respecto a las soluciones administradas, éstas fueron inyectadas intraperitonealmente en tres dosis diferentes, determinándose el porcentaje de respuesta en cada caso, después de 40 minutos de haber administrado el fármaco.

1.—Clorhidrato de Morfina.

Empleamos "Clorhidrato de Morfina al 1%", preparado por el Laboratorio Pasteur de Concepción y "Clorhidrato de Morfina" May & Baker Ltda. en distintas diluciones.

2.—Sulfato de Atropina.

Usamos en nuestras preparaciones, Sulfato de Atropina Merck en solución acuosa.

3.—Bromhidrato de Escopolamina.

Utilizamos Bromhidrato de Escopolamina de J. F. MacFarlan & Co. en solución acuosa.

4.—Bromhidrato de Homatropina.

Empleamos Bromhidrato de Homatropina Merck en solución acuosa.

4.—Cálculo Estadístico

Para la determinación del umbral de analgesia, nos basamos en trabajos de **Bonycastle** y **Leonard** ⁽²¹⁾, quienes lo obtienen, sumando al término medio (T. M.) normal, 2.32 veces su desviación standard (D. S.).

Para los cálculos de la dosis efectiva 50 (D. E. 50), seguimos las indicaciones de **Burn**, **Günther** y **Finney** ^(22, 23, 24).

En cada determinación de D. E. 50 hicimos además los cálculos de linealidad de los valores experimentales obtenidos, de acuerdo a los autores antes mencionados.

RESULTADOS

Con el objeto de visualizar y hacer más demostrativos nuestros resultados, los hemos presentado en forma de gráficos.

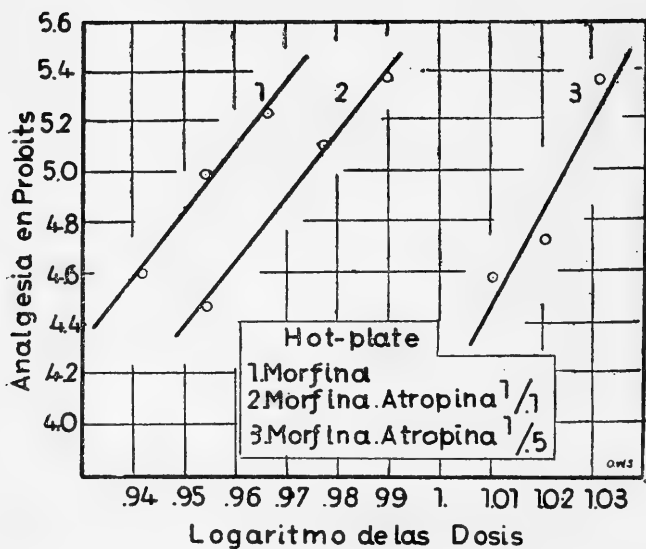
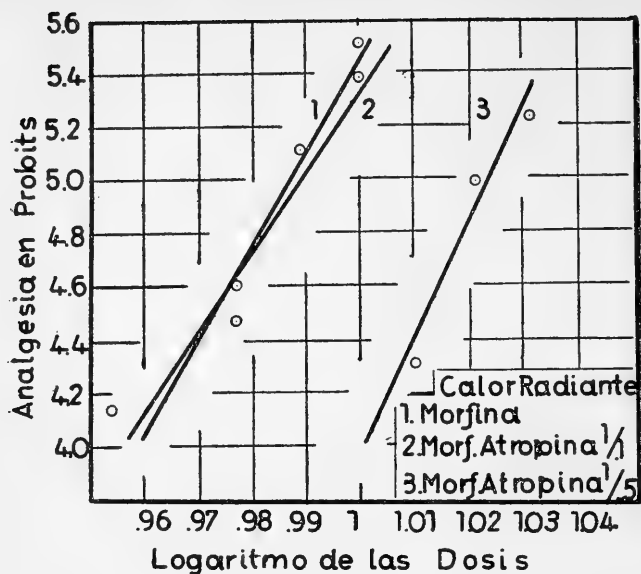


GRAFICO Nº 1.—Corresponde a la acción de la Atropina sobre la analgesia morfínica tanto en la técnica de Superficie Caliente (Hot-plate) como en la de Calor Radiante. Las dosis se expresan en logaritmos y el % de analgesia en Probits.

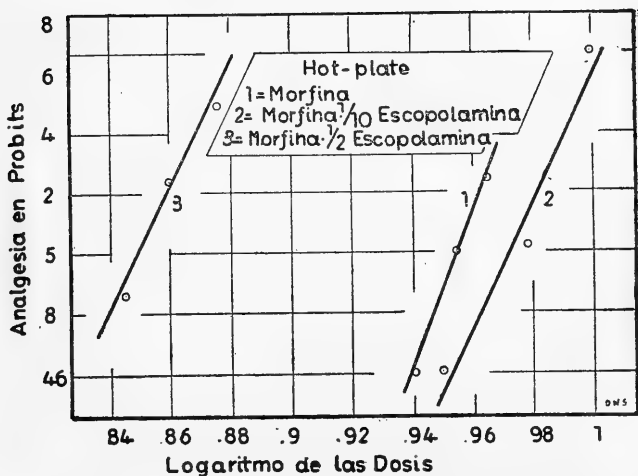
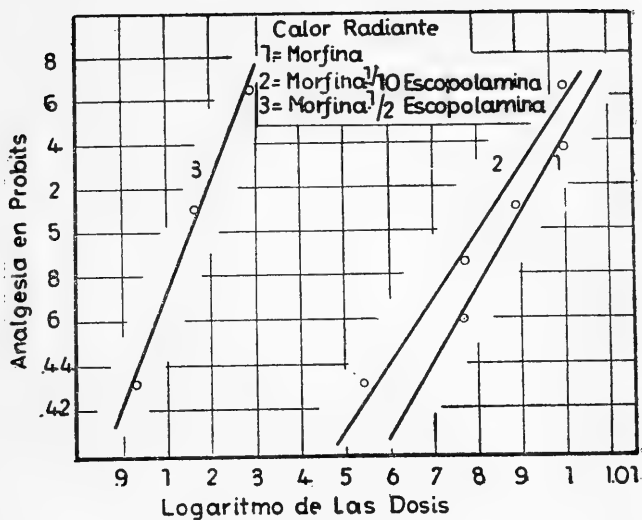


GRAFICO Nº 2.—Corresponde a la acción de la Escopolamina sobre la analgesia por Morfina. Se usaron las técnicas de Superficie Caliente (Hot-plate) y de Calor Radiante. Las dosis se expresan en logaritmos y el porcentaje de analgesia en Probits.

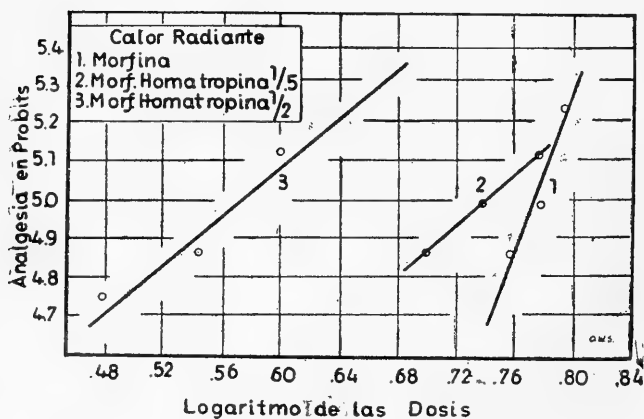
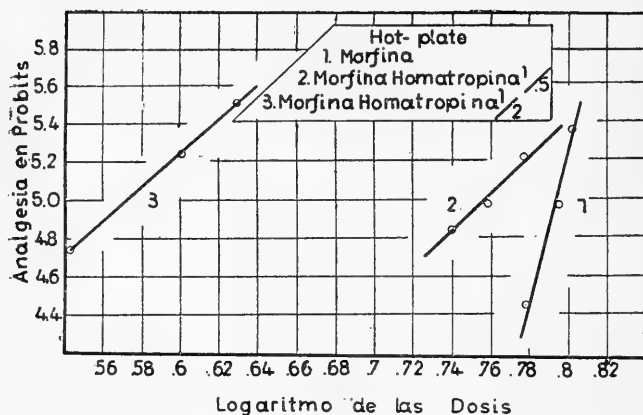


GRAFICO Nº 3.—Efecto de la Homatropina en la analgesia por Morfina tanto en la técnica de Calor Radiante como en la de Superficie Caliente (Hot-plate). Las dosis se expresan en logaritmos y el % de analgesia en Probits.

CUADRO Nº 1

Valores significativos "t" obtenidos con la técnica de Superficie Caliente

Grupos comparados (1)	Valores comparados (2)	"t" (3)
M/MA 1/1 — 0.1	9.03 ± 0.15 / 9.41 ± 0.13	1.832
M/ME 1/1 — 0.1	9.03 ± 0.15 / 9.31 ± 0.17	1.228
M/MH 1/1 — 0.5	6.27 ± 0.11 / 5.69 ± 0.22	2.31
M/MA 1/1 — 0.5	9.03 ± 0.15 / 10.55 ± 0.12	7.849
M/ME 1/1 — 0.5	9.03 ± 0.15 / 7.14 ± 0.14	9.011
M/MH 1/1 — 2	6.27 ± 0.11 / 3.73 ± 0.17	11.99

CUADRO Nº 2

Valores significativos "t" obtenidos con la técnica del Calor Radiante

Grupos comparados (1)	Valores comparados (2)	"t" (3)
M/MA 1/1 — 0.1	0.71 ± 0.11 / 9.71 ± 0.14	0.021
M/ME 1/1 — 0.1	9.71 ± 0.11 / 9.52 ± 0.12	1.117
M/MH 1/1 — 0.5	5.94 ± 0.21 / 5.48 ± 0.61	0.703
M/MA 1/1 — 0.5	9.71 ± 0.11 / 10.55 ± 0.07	6.315
M/ME 1/1 — 0.5	9.71 ± 0.11 / 8.25 ± 0.35	3.965
M/MH 1/1 — 2	5.94 ± 0.21 / 3.70 ± 0.52	3.971

NOTA: M corresponde a Morfina.

MA " " morfina-atropina.
ME " " morfina-escopolamina.
MH " " morfina-homatropina.

1/1 — 0.1: ej. de la proporción en que se combina la morfina a los distintos fármacos.

DISCUSION DE RESULTADOS

Conviene recordar que en la acción analgésica de la morfina (²⁵), existen tres acciones diferentes; una acción depresora sobre el umbral del dolor; una acción depresora sobre la respuesta del dolor (que correspondería a nuestras determinaciones experimentales), que sería la más importante; y por último, una acción facilitadora de la "hipnosis".

En nuestras experiencias hemos empleado dos técnicas diferentes para las determinaciones de analgesia; una de ellas (Calor Radiante), implica un mecanismo sencillo de reflejos medulares, como lo han determinado Houde, Wikler y col. (²⁶, ²⁷, ²⁸),

quienes han constatado que este reflejo se mantiene aún después de seccionar la médula a nivel de la cuarta y doceava vértebra dorsal, y que estos animales hechos crónicos en estas condiciones, responden en forma semejante a los normales a la acción de algunos analgésicos.

En cambio la técnica de la Superficie Caliente, involucra en sus respuestas (el mojarse las patas delanteras con la lengua) centros nerviosos encefálicos.

El empleo simultáneo de estas técnicas, nos permiten explorar la acción de los analgésicos a distintos niveles del sistema nervioso central.

Como test en nuestro trabajo, utilizamos la determinación de la D. E. 50 de Morfina, en consideración que con esta metódica podremos comparar siempre el mismo efecto, que es por lo demás, de una alta precisión estadística, ya que su determinación implica el empleo de un elevado número de animales y un largo proceso matemático de elaboración y obtención teórica. Por otra parte, la sola observación de las dosis utilizadas nos permite deducir en forma directa cuando una combinación farmacológica es más efectiva que otra para producir el mismo efecto.

La Atropina asociada a la Morfina en proporción de 1 : 0.1 no produce variaciones significativas de la D. E. 50 de Morfina, pero al administrarla en proporción de 1 : 0.5 produce un aumento significativo de esta D. E. 50.

Estos resultados nos indican un antagonismo parcial entre estas drogas, lo que podría estar de acuerdo con lo observado por **Frommel**, que en experiencias parecidas, atribuye la acción analgésica de la Morfina a su efecto vagotónico, pero es interesante señalar que en consideraciones enteramente opuestas **Allen, Murphy y Meek** ⁽²⁹⁾, han indicado que el aumento del tono parasimpático por la Morfina, sería debido a un efecto de liberación de los centros vagales por una depresión cortical.

La Escopolamina asociada a la Morfina en proporción de 1 : 0.1 no produce modificaciones significativas al igual que en el caso anterior, pero al administrarla en proporción de 1 : 0.5 provoca una disminución de la D. E. 50 de Morfina en ambas técnicas, lo que hablaría en favor de un sinergismo de acción incluso a diferentes niveles del sistema nervioso central (S. N. C.), hecho este último que está en desacuerdo con las consideraciones de **Frommel**, pero que sin embargo corresponde a los conceptos clásicos de la acción de la Escopolamina sobre el S. N. C. ^(30, 12, 13, 14).

La asociación de Homatropina a la Morfina en proporción de 1 : 0.5 y de 1 : 2 produce en ambos casos disminuciones significativas de la D. E. 50 de Morfina, de mayor intensidad que en el caso de la Escopolamina.

Nos parece que esta discrepancia entre nuestros resultados y los presentados por **Frommel** en la analgesia morfínica al estudiar la acción de la Atropina y Escopolamina, se debe a que este autor emplea dosis que corresponden aproximadamente a las más bajas utilizadas por nosotros, a cuyo nivel las variaciones no son significativas.

De esta forma uno de los fundamentos de la hipótesis de **Frommel**, esto es el antagonismo entre la Morfina y las sustancias parasimpaticolíticas no se puede mantener, por cuanto de tres vagolíticos ensayados sólo la Atropina manifiesta algún antagonismo, haciendo subir levemente la D. E. 50 de Morfina (8 y 16%), lo que podría ser quizás mejor explicado por su acción excitante sobre la corteza cerebral ⁽¹⁴⁾.

En cambio las acciones de la Escopolamina y Homatropina podrían considerarse generales de acuerdo con lo observado por **Skouby** ⁽³²⁾ sobre el efecto de los parasimpaticolíticos sobre la sensibilidad cutánea en el sentido que elevarían el umbral de percepción a estímulos nociceptivos.

CONCLUSIONES

- 1.—Se determina analgesia en lauchas blancas por las siguientes técnicas: Superficie Caliente y del Calor Radiante.
- 2.—Se estudia la influencia de la Atropina, Escopolamina y Homatropina sobre analgesia morfínica.
- 3.—No se observa semejanza en la acción de los tres parasimpaticolíticos estudiados.
- 4.—Nuestros resultados no están de acuerdo con la hipótesis de **Frommel**, quien explica la analgesia morfínica por un efecto para simpaticomimético.
- 5.—Se discuten estos resultados.

SUMMARY

The influence of Atropine, Scopolamine and Homatropine, on the analgesic action of Morphine, is studied. No common pattern of interaction exists among the various parasymphaticolytics used. Atropine is partially antagonistic to Morphine, while Scopolamine and Homatropine have a synergic action.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—KRANTZ, J., CARR, J.—Pharmacologic principles of medical practice. Williams & Wilkins Co. Baltimore, 652 (1949).
- 2.—ORTH, S., ROBB, J., LEMMER, K. E.—Fed. Proc., 10: 329 (1951).
- 3.—HARRIS, T. A. B.—E. & S. Livingstone Ltda. Edinburgh, 299 y 318-319 (1951).
- 4.—TIFFENEAU, M.—Vigot Freres. París. VI Ed. 46 (1947).
- 5.—DAVISON, F. R.—Handbook of Materia Medica, Toxicology and Pharmacology. Mosby Co. St. Louis. IV Ed., 370 (1949).

- 6.—BURN, J. H.—*Avances en Farmacología y Terapéutica*. Espasa-Calpe S. A. Madrid, 26-28 (1948).
- 7.—FROMMEL, E.—*Actualités Pharmacologiques*. III Série, 157-181 (1951).
- 8.—FLODMARK, S., WRAMNER, T.—*Acta Physiol. Scandinav.*, 9: 88-96 (1945).
- 9.—WRAMNER, T.—*Acta Physiol. Scandinav.*, 9: 336-339 (1945).
- 10.—SLAUGHTER, D., NUNSELL, D. W.—*J. Pharmacol.*, 68: 104-112 (1940).
- 11.—CHRISTENSEN, E. M., GROSS, E. G.—*J. A. M. A.*, 137: 594-599 (1948).
- 12.—TARDIEU, G., TARDIEU, C.—*Le système nerveux végétatif*. Massons & Co. Paris, 668 (1948).
- 13.—HAZARD, R.—*Précis de Thérapeutique et de Pharmacologie*. Masson & Co. Paris, 517-520 y 856-859 (1950).
- 14.—SOLLMANN, T.—*Farmacología y sus aplicaciones a la Terapéutica y a la Toxicología*. Salvat S. A. Barcelona, 441-434 (1949).
- 15.—CHEN, J. P., BECKMAN, H.—*Science.*, 113: 631 (1951).
- 16.—HOLCK, H. G. O., KIMURA, K. K., KIMURA, T. E.—*J. A. Ph. A.*, 39: 354-359 (1950).
- 17.—JACOB, J., SZERB, J.—*Arch. Internat. Pharmacodyn. Thérap.*, 87: 251-253 (1951).
- 18.—HARDY, J. D., WOLFF, H. D., GOODELL, H.—*J. Clin. Inv.*, 19: 649-657 (1940).
- 19.—D'AMOUR, F. E., SMITH, D. L.—*J. Pharmacol.*, 72: 74-79 (1941).
- 20.—GREEN, A. F., YOUNG, P. A.—*Brit. J. Pharm. & Chemother.*, 6: 572-587 (1951).
- 21.—BONNYCASTLE, D. D., LEONARD, C. S.—*J. Pharmacol.*, 100: 141-145 (1950).
- 22.—BURN, J. H., FINNEY, D. J., GOODWIN, L. G.—*Biological Standardization*. Oxford Univ. Press. II Ed., 26-175 (1950).
- 23.—GÜNTHER, B.—*Cálculo de probabilidades en Biología y Medicina*. Ciencia e Invest., 1: 407-414 (1945).
- 24.—FINNEY, D. J.—*Probit Analysis*. Cambridge Univ. Press., 20-61 (1947).
- 25.—HARDY, D. J., WOLFF, G. H., GOODELL, H.—*Pain*. Williams & Co. Baltimore, 1-15 (1943).
- 26.—WIKLER, A.—*J. Pharmacol.*, 100: 477 (1950).
- 27.—IRWIN, S., HOUE, R. W., BENNET, D. R., HENDERSHOT, L. C., SEEBERS, M. H.—*J. Pharmacol.*, 101: 132-143 (1951).
- 28.—HOUE, W., SEEVERS, M. H., PURCELL, F., IRWIN, S.—*J. Pharmacol.*, 98: 14 (1950).
- 29.—WIKLER, A., WRIGHT, S.—*J. Physiol.*, 89: 384-402 (1937).
- 30.—MERCIER, F.—*Actualités Pharmacologiques*. III Série, 49-67 (1951).
- 31.—SALTER, W. T.—*Textbook Pharmacology*. Saunders Co. Phil., 808 (1952).
- 32.—SKOUBY, A. P.—*Acta Physiol. Scandinav.*, 25: Sup. 89: 76 (1951).

Factores que influyen en la acción analgésica de la morfina y derivados

Influencia del Sistema Neurovegetativo

2.—Acción de fármacos anticolinoesterásicos

(Con 4 figuras)

por

Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L. (*)

INTRODUCCION

En la actualidad en el Laboratorio de Farmacología de la Universidad de Concepción, una de las líneas de investigación científica seguidas de un tiempo a esta parte, es el conocimiento del mecanismo de acción de las drogas analgésicas, en especial de la Morfina.

Como primera etapa de una prolongada investigación, hemos analizado con espíritu crítico las distintas hipótesis propuestas para explicar esta acción analgésica.

En un trabajo anterior, discutimos la influencia de los fármacos parasimpaticolíticos en la analgesia morfínica ⁽¹⁾, con el objeto de controlar uno de los fundamentos propuestos por **Frommel** para explicar esta acción de la Morfina ⁽²⁾.

En esa oportunidad pudimos constatar que si bien, el hecho observado por **Frommel**, en el sentido que la Atropina antagoniza el efecto analgésico de la Morfina es valedero no es éste general para los fármacos parasimpaticolíticos, ya que la Escopolamina y Homatropina aumentan la actividad analgésica de esta droga.

(*) Este trabajo ha sido auspiciado por el Consejo de Investigación Científica de la Universidad de Concepción.

La otra base expuesta por **Frommel** consiste en el hecho de que dos fármacos anticolinoesterásicos la Eserina y Prostigmina potencian el efecto analgésico de la Morfina (³, ⁴, ⁵).

En este trabajo presentamos nuestros resultados destinados a comprobar estas experiencias, estudiando no sólo la acción de los fármacos antes mencionados sino también la del Diisopropilfluorofosfato de sodio (D. F. P.) sobre la Morfina y la de estas drogas aisladas.

METODICA

Como en nuestro trabajo anterior, utilizamos para los ensayos, la técnica de Superficie Caliente, basada en la variación del tiempo de respuesta a un estímulo térmico aplicado en las patas de las lauchas por medio de una superficie calentada a una temperatura constante, como ha sido detallado en trabajos anteriores (⁶, ⁷, ⁸).

Los animales usados fueron igualmente lauchas blancas de la misma cepa y de un mismo sexo para cada determinación.

Los resultados los exponemos en forma de gráficos, en los cuales las dosis se expresan por sus respectivos logaritmos y los porcentajes de analgesia en Probits.

Soluciones empleadas

Morfina Clorhidrato, May Baker, en solución acuosa.

Eserina Salicilato, S. B. Penick Co., en solución acuosa.

Prostigmina, Roche, en solución acuosa.

Di-isopropil-fluorofosfato de sodio (D. F. P.), Merck, en solución oleosa.

Cálculos estadísticos

Para la determinación de la dosis efectiva cincuenta (D. E. 50) seguimos las indicaciones de **Burn y Finney** (⁹, ¹⁰).

RESULTADOS

Con el objeto de visualizar y hacer más demostrativos nuestros resultados, los hemos presentado en forma de gráficos.

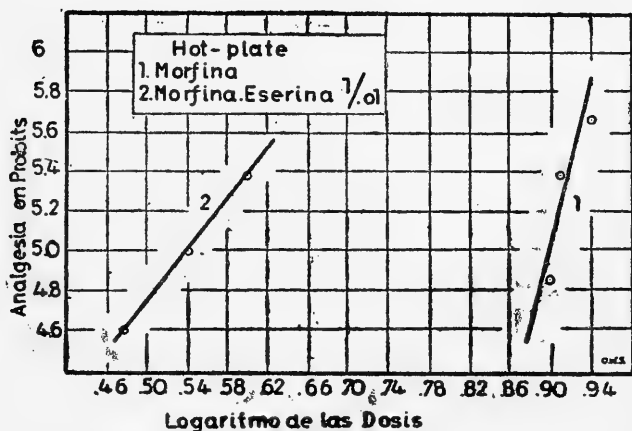
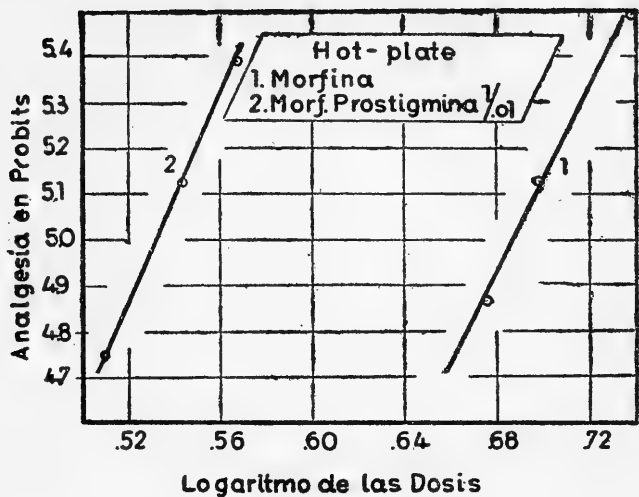
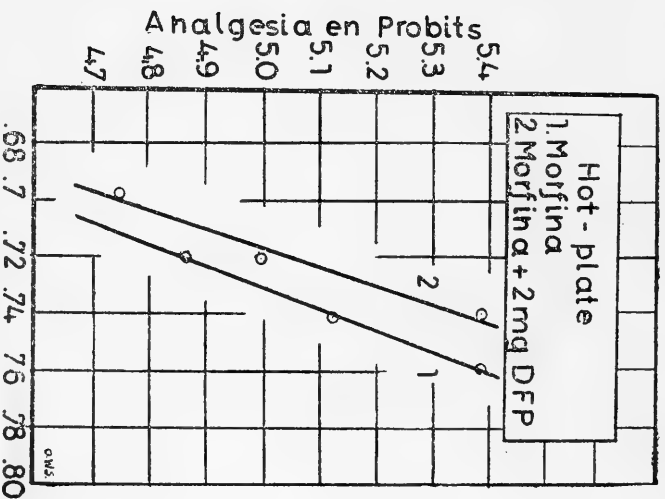
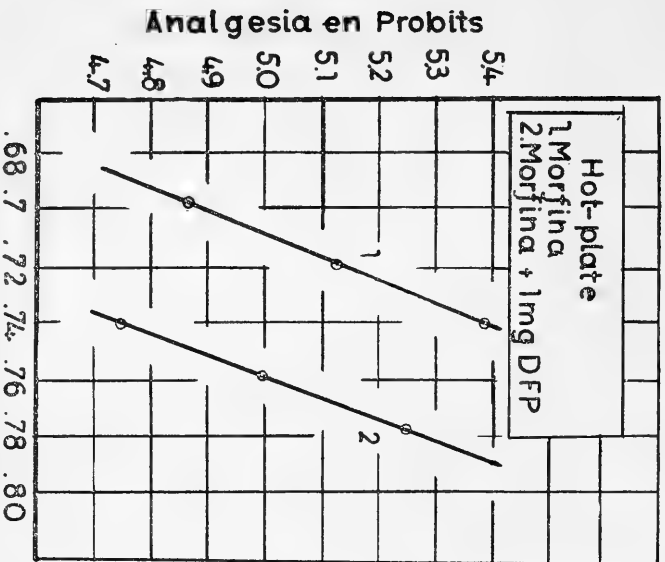


GRAFICO Nº 1.—Corresponde a la acción de la Prostigmina y Eserina sobre la analgesia morfínica.



Logaritmo de las Dosis
de la Morfina.

GRAFICO Nº 2.—Corresponde al efecto del D. F. P. sobre la acción analgésica

Logaritmo de las Dosis

VALORES SIGNIFICATIVOS "t" OBTENIDOS DE LA ACCION DE DROGAS ANTICOLINOESTERASICAS EN LA ANALGESIA MORFINICA

Grupos comparados (1)	Valores comparados (2)	"t" (3)
M/ME	8.03 \pm 0.51 / 3.47 \pm 0.65	5.34
M/MP	4.87 \pm 0.21 / 3.42 \pm 0.41	3.09
M/M + 1 mg D. F. P.	5.12 \pm 0.62 / 5.74 \pm 0.51	0.77
M/M + 2 mg D. F. P.	5.37 \pm 0.17 / 5.20 \pm 0.45	0.32

NOTA: M : Morfina

E : Eserina

P : Prostigmina

D. F. P. : Diisopropilfluorofosfato de sodio.

DISCUSION DE RESULTADOS

Debemos insistir que en nuestras determinaciones sólo medimos las variaciones de la respuesta de los animales a estímulos nociceptivos.

Pudimos comprobar que la Eserina y Prostigmina aumentan el efecto analgésico de la Morfina en forma estadísticamente significativa.

La Eserina en dosis aproximadamente 4 veces superior a la asociada a la Morfina tiene un efecto analgésico, el cual no es modificado por su asociación al D. F. P.

La Prostigmina no manifiesta en ningún caso acción analgésica, aún en dosis cercanas a la letal; por el contrario esta droga desencadena en los animales un cuadro de excitación.

Esta diferencia observada entre la Eserina y Prostigmina al administrarlas en forma aislada, podría deberse quizás a diferencias de estructura química que modificarían su sitio de acción como ha sido discutido por **Sexton** ⁽¹¹⁾. La Eserina es una base terciaria y actuaría en el interior de la célula, en cambio la Prostigmina que es una sal cuaternaria, actuaría preferentemente en el medio extracelular.

La asociación del D. F. P. a la Morfina no modifica el efecto analgésico de ésta, ni posee el D. F. P. en dosis de 1, 2 y 3 mg. por Kg. de laucha efecto analgésico propio.

Esta falta de acción del D. F. P. podría deberse a que es un fármaco anticolinoesterásico de acción selectiva, que actúa preferentemente inhibiendo la pseudocolinoesterasa en dosis de 100 a 200 veces inferior a la necesaria para inhibir la colinoesterasa específica ^(12, 13, 14), lo que podría estar en relación con el mayor contenido de este enzimo en el sistema nervioso central (S. N. C.).

Los resultados indican que si bien la Eserina y Prostigmina aumentan el efecto analgésico de la Morfina, éste no es general para los fármacos anticolinoesterásicos, ya que el D. F. P. substancia también anticolinoesterásica y desprovista de otras

acciones secundarias no modifica la acción analgésica de la Morfina.

En la actualidad tenemos en marcha trabajos encaminados a establecer si existe correlación entre el grado de inhibición de la pseudocolinoesterasa y colinoesterasa específica, y los efectos analgésicos obtenidos por las distintas combinaciones farmacológicas ensayadas anteriormente.

Así mismo está en realización un trabajo destinado a estudiar el efecto de fármacos parasimpaticomiméticos de acción muscarínica, sobre la acción analgésica de la Morfina, con el objeto de completar nuestra revisión de la participación del Sistema Neurovegetativo en este fenómeno.

SUMMARY

The influence of Eserine, Prostigmine and D. F. P. on the analgesic action of Morphine, is studied.

While Eserine and Prostigmine increase this action of Morphine, D. F. P. does not modified it.

The interpretation of this results is discust.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—LECANNELIER, R. S., BARDISA, U. L., TAMAYO, R. L., ABARCA, B. F.—*Bol. Soc. Biol. Univ. de Concepción* (1953). En prensa.
- 2.—FROMMEL, E.—*Actualités Pharmacologiques*. III Série., 157-181 (1951).
- 3.—WRAMNER, T.—*Acta Physiol. Scandinav.*, 9: 336-339 (1945).
- 4.—FLODMARK, S., WRAMNER, T.—*Acta Physiol. Scandinav.*, 9: 88-96 (1945).
- 5.—SLAUGHTER, D., NUNSELL, D. W.—*J. Pharmacol.*, 68: 104-112 (1940).
- 6.—CHEN, J. P., BECKMAN, H.—*Science.*, 113: 631 (1951).
- 7.—HOLCK, H. G. O., KIMURA, K. K., KIMURA, T. E.—*J. A. Ph. A.*, 39: 354-359 (1950).
- 8.—JACOB, J., SZERB, J.—*Arch. Internat. Pharmacodyn. Thérap.*, 87: 251-253 (1951).
- 9.—BURN, J. H., FINNEY, D. J., GOOGWIN, L. G.—*Biological Standardization*. Oxford Univ. Press. II Ed., 26-175 (1950).
- 10.—FINNEY, D. J.—*Probit Analysis*. Cambridge Univ. Press., 20-61 (1947).
- 11.—SEXTON, W. A.—*Chemical Constitution and Biological Activity*. London E. & F. N. Spon Ltd., 182-184 (1949).
- 12.—ROBSON, J. M., KEELE, C. A.—*Recent Advances in Pharmacology*. London J. & A. Churchill Ltd., 1-22 (1951).
- 13.—AUSTIN, L., BERRY, W. K.—*Biochem. J.*, 54: 695-700 (1953).
- 14.—DAVISON, A. N.—*Brit. J. Pharmacol.*, 8: 212-216 (1953).

Acción del Banthine sobre la secreción y motilidad gástrica en enfermos con úlcera péptica

(Con 5 gráficos)

por

F. Biel C. y M. Cabrera R.

INTRODUCCION

Ha sido materia de controversia el hecho de que la úlcera péptica en sus distintas localizaciones pueda ser curada mediante la vagotomía. **Dragstedt y col.** ⁽¹⁾ han sustentado el éxito de dicha intervención. En los últimos años se ha observado un renovado interés en la posibilidad de bloquear la transmisión de los impulsos secretorios mediados por el vago a través del uso de drogas parasimpaticolíticas. **Acheson y Moe** ⁽²⁾ revivieron el interés sobre la acción que presenta el ión tetra-etilamonio en bloquear la sinapsis ganglionar. Posteriormente se han realizado esfuerzos en descubrir otras drogas capaces de interrumpir estas sinapsis sin acompañarse de efectos tóxicos desagradables y de ser efectivas cuando se usan por vía oral. **Palmer y col.** ⁽³⁾ han sostenido que la Atropina en dosis que llegan a ser tóxicas, no es capaz de reducir la hipersecreción en ayunas propia de los pacientes con úlcera duodenal. Se han estudiado otras drogas con este fin, entre ellas un derivado cuaternario del amonio, el Banthine o bromuro de metantelina. Las investigaciones indicaron que la droga era efectiva en bloquear la transmisión a través del ganglio cervical superior del gato o a través del ganglio parasimpático del nervio pélvico que inerva la vejiga urinaria del perro. La acción bloqueadora parasimpática es más intensa que el efecto bloqueador sobre el simpático. **Longino y Grimson** ⁽⁴⁾ encontraron que el Banthine reduce o disminuye la secreción y motilidad del estómago.

El fármaco a concentraciones bajas tiene una acción semejante a la Atropina bloqueando las terminaciones post ganglionares del parasimpático, en cambio a dosis altas bloquea igualmente los ganglios autónomos.

Desde la comunicación de **Longino** (⁴) han aparecido una serie de publicaciones acerca de los resultados excelentes de la droga en el control de los síntomas de la úlcera péptica (^{5, 6, 7, 8}). Hoy día hay suficiente evidencia que indican que la fisiopatología de la úlcera se realiza por intermedio del nervio vago. Por lo tanto, la presente comunicación tiene el fin de estudiar la influencia del fármaco sobre la secreción gástrica basal y la motilidad gástrica de pacientes con úlcera péptica, comparándolo en lo que respecta a secreción con las variaciones que sufre ésta en forma espontánea.

MATERIAL Y METODO

Las observaciones a analizar fueron llevadas a cabo en individuos con úlcera péptica demostrada radiológicamente. Después de 12 horas en ayunas fueron intubadas con sonda de Rehfus y el extremo de la oliva colocada en el antro, controlándose a Rayos X periódicamente su correcta posición. El extremo proximal de la sonda fué conectado a un aparato de succión continua tipo Gomco, coleccionándose las muestras cada 15 minutos durante un período de 180 minutos. Se extrajo secreción basal durante 60 minutos, inyectándose a continuación el Banthine a la dosis de 50 y 100 mlgrs. por vía intramuscular.

En un grupo de pacientes ulcerosos, tomados como control, la secreción gástrica fué succionada durante 180 minutos sin agregarse el fármaco.

La acidez libre fué titulada con Na OH N/50 usando como indicador el reactivo de Töpfer y la acidez total fué determinada usando como indicador la fenoltaleína. El valor de la acidez fué expresado en unidades clínicas y en mEq/ET por hora.

Para el estudio de motilidad gástrica fueron empleados el método de la Poligrafía ideado por **Bachem y Günther** (⁹) y el tiempo de vaciamiento gástrico. Como técnica radiológica se usó la de **Golden** (¹⁰) o sea sulfato de Bario disuelto en suero fisiológico.

RESULTADOS

I.—Secreción gástrica

El efecto del Banthine fué estudiado en 37 pacientes con úlcera péptica en los cuales se realizaron 70 extracciones de jugo gástrico. En todos ellos se hizo el estudio de la secreción gástrica espontánea.

CONDICIONES	CASOS	1ª HORA	2ª HORA	3ª HORA
Secreción basal	37	183±12,1	117±6,6	118±5,5
Banthine 50 mlgrs.	22	171±15,1	71±8,8	39±7,2
Banthine 100 mlgrs.	11	187±19,2	50±7,9	40±9,4

TABLA Nº 1.—Volumen secretado por hora. Términos medios expresados en mls.

a) En la Tabla Nº 1 se observa el comportamiento del volumen de la secreción gástrica en períodos de 60 minutos. En ella se puede observar que el término medio del volumen es más o menos constante en la secreción basal de la primera hora en los 3 grupos de observaciones y que con el uso del fármaco en dosis de 50 y 100 mlgrs. hay una evidente disminución del volumen secretor por hora.

CONDICIONES	CASOS	1ª HORA	2ª HORA	3ª HORA
Secreción basal	37	128± 9,6	126±13,1	100±11,6
Banthine 50 mlgrs.	22	131±17,1	126±20,1	86±17,0
Banthine 100 mlgrs.	11	114±23,3	85±16,3	68±39,8

TABLA Nº 2.—Acidez libre. Término medio de la suma de las unidades clínicas por hora.

b) Referente a la acidez libre expresada en unidades clínicas por hora la Tabla Nº 2 nos demuestra que los valores obtenidos en la segunda y tercera hora, ya sea en la secreción espontánea o en la influenciada por el fármaco, es semejante a la referencia que se obtuvieron en la primera hora y que no hay una manifiesta disminución en los valores de la acidez libre.

CONDICIONES	CASOS	1ª HORA	2ª HORA	3ª HORA
Secreción basal	37	5,667±0,758	3,743±0,436	2,988±0,421
Banthine 50 mlgrs.	22	6,009±0,975	2,704±0,606	1,489±0,418
Banthine 100 mlgrs.	11	5,492±1,280	1,878±0,494	1,419±0,864

TABLA Nº 3.—Miliequivalentes de ácido clorhídrico. Excreción total por hora expresada en términos medios.

c) La Tabla Nº 3 expresa los valores obtenidos en mEq/ET por hora, apreciándose que el Banthine en dosis de 50 y 100 mlgrs. influencia evidentemente la excreción total de ácido clorhídrico.

En el Gráfico Nº 1 se proyecta comparativamente los valores de volumen secretor, unidades clínicas y mEq/ET entre secreción espontánea y secreción con Banthine.

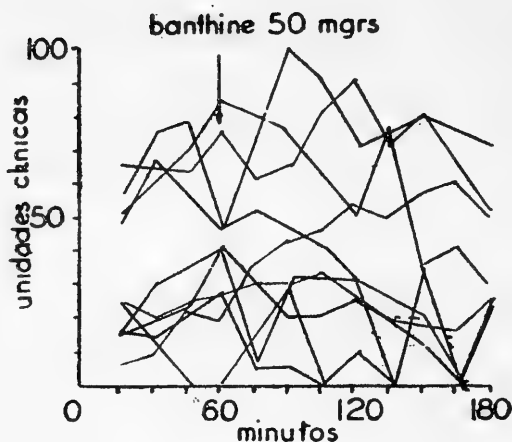


TABLA Nº 4

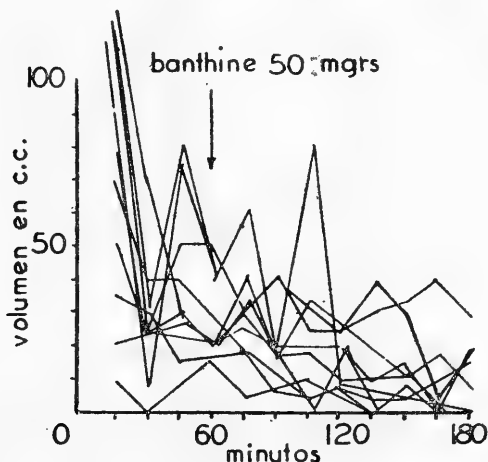
Valores significativos

VOL.	Secrec. basal con Banthine 50 mlgrs. 2ª h.	4,14
	Secrec. basal con Banthine 100 mlgrs. 2ª h.	7,19
	Secrec. basal con Banthine 50 mlgrs. 3ª h.	8,87
	Secrec. basal con Banthine 100 mlgrs. 3ª h.	7,15
ACIDEZ LIBRE	Secrec. basal con Banthine 50 mlgrs. 2ª h.	0,00
	Secrec. basal con Banthine 100 mlgrs. 2ª h.	1,95
	Secrec. basal con Banthine 50 mlgrs. 3ª h.	0,68
	Secrec. basal con Banthine 100 mlgrs. 3ª h.	0,79
mEq/ET por hora	Secrec. basal con Banthine 50 mlgrs. 2ª h.	3,37
	Secrec. basal con Banthine 100 mlgrs. 2ª h.	2,82
	Secrec. basal con Banthine 50 mlgrs. 3ª h.	2,54
	Secrec. basal con Banthine 100 mlgrs. 3ª h.	1,69

La Tabla Nº 4 da valores que son significativos cuando se comparan las cifras de volumen y de mEq/ET entre la secreción gástrica espontánea y la secreción gástrica modificada por

el Banthine, no obteniéndose influencia significativa cuando se comparan las cifras de acidez libre expresadas en Unidades Clínicas.

Anaclorhidria.—Las cifras de ácido clorhídrico libre que alcanzaron a 0 mEa/ET por hora fué en 4 de 22 observaciones (18,2%) con Banthine 50 mlgrs. a 7 de 11 casos (63,6), con 100 mlgrs. de Banthine comparado con 6 casos de las 37 observaciones sin droga (16,2%).



En el Gráfico Nº 2 y Nº 3 se observa el comportamiento de las curvas de acidez libre y volumen correspondiente a 10 enfermos con úlcera péptica, bajo la acción de 50 mlgrs. del Bromuro de Metantelina. No hay modificación en lo que respecta a disminución de los valores basales de acidez pero sí descenso del volumen secretor.

Síntomas secundarios.—Se observaron en la casi totalidad de los casos siendo los principales sequedad de la boca, dificultad en la visión y no rara vez retención urinaria que se prolongó hasta 10 horas después de inyectada la droga.

II.—Motilidad gástrica

La motilidad del estómago se estudió mediante los métodos poligráficos y tiempo de vaciamiento del estómago; se analizó la influencia del Banthine.

VOL. ml.

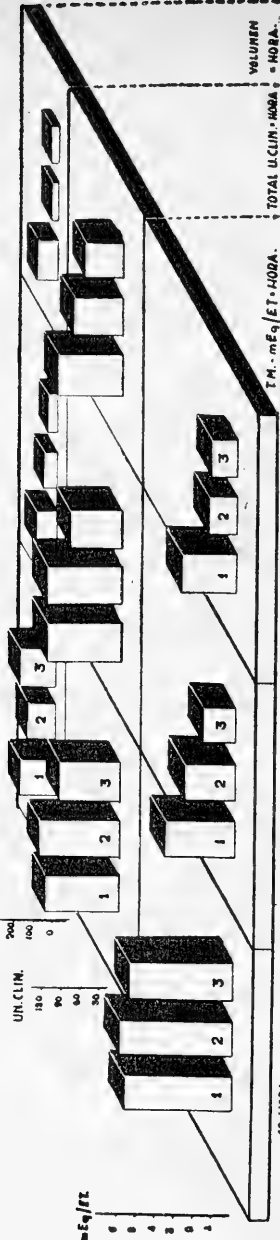
UN. CLIN.

200
100
0

180
90
60
30
0

mEq/l

6
5
4
3
2
1
0



VOLUMEN

TOTAL U. CLIN. = HORA.

T.M. mEq / ET. HORA.

a) **Estudio poligráfico.**—Con este método se pueden observar los cambios y alteraciones del tonus y de la amplitud de las contracciones.

El tonus fué interpretado mediante una escala arbitraria en grados que va desde el 1 al 3 de acuerdo a la disminución de él. Referente a la amplitud de contracciones se midió en milímetros relacionando la poligrafía simple con aquella a la cual se inyectó previamente la droga (20 minutos). El Cuadro Nº 1 demuestra la disminución del tonus en las 7 observaciones y en cuanto a la contractibilidad la influencia fué manifiesta en 6 de las 7 observaciones.

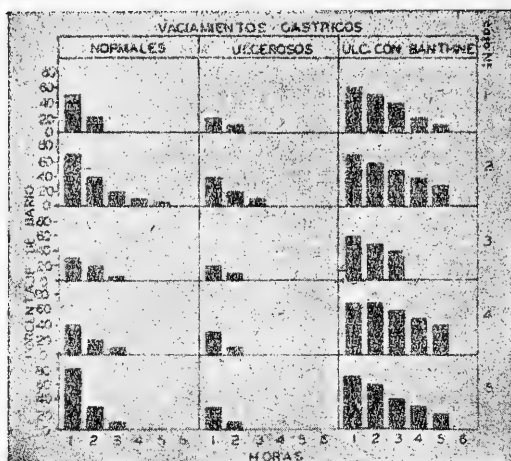
ESTUDIO POLIGRAFICO.					
TONICIDAD			CONTRACTIBILIDAD. mltrs		
grado 1	grado 2	grado 3	con Banthine	sin Banthine.	Diferencia.
		+	14	22	- 8
		+	10	5	+ 5
	+		3	10	- 7
	+		4	6	- 2
	+		4	8	- 4
		+	2	7	- 5
		+	4	9	- 5

b) **Vaciamiento gástrico.**—Mediante este método fueron estudiadas las modificaciones ejercidas por el Bromuro de Metantelina sobre el peristaltismo gástrico.

Los resultados se compararon con el tiempo de vaciamiento en individuos normales y ulcerosos sin droga. Se aprecia en el Gráfico Nº 4 que el tiempo de vaciamiento del ulceroso es acelerado respecto de los normales, en cambio bajo la acción del Banthine en dosis de 50 mgrs. el estómago retarda su evacuación en forma pronunciadísima de tal manera que al cabo de 5 horas el porcentaje de Bario que permanece en él sube del 20%.

DISCUSION

Los fines de este estudio fueron determinar si la acción benéfica del Banthine como bloqueador del parasimpático, en



casos de pacientes con úlcera péptica, se ejercería por influencia sobre la secreción gástrica o bien si actuaría primordialmente sobre la motilidad del estómago. En lo que respecta a la secreción gástrica, una vez analizados nuestros resultados podemos deducir que el fármaco actúa primordialmente sobre el volumen produciendo tanto a la dosis de 50 mlgrs. como de 100 mlgrs. un franco descenso. No sucede lo mismo con los valores de acidez libre expresados en unidades clínicas, si son comparadas las cifras con los valores basales. Pero, la disminución en volumen acarrea una menor concentración en mEq/ET, hecho de por sí importante ya que expone a la mucosa a una menor concentración de ácido clorhídrico. Estos valores son significativos si se comparan con las cifras de secreción espontánea en los mismos pacientes. Por otro lado, elevando la dosis a 100 mlgrs. el número de casos con anaclorhidria aumenta, pero no alcanza a la totalidad, siendo realmente esto, el único índice de valor para determinar la efectividad de un fármaco como bloqueador del sistema parasimpático en lo que respecta a secreción gástrica.

Los estudios sobre motilidad en general se han realizado sobre asas aisladas del intestino de animales de experimentación tanto in vitro como aún in vivo, estas experiencias acarrean datos de valor, pero que son interrogantes respecto a su uso en el hombre. Es por esto que nosotros hemos tomado como índice la influencia que tiene la droga sobre la motilidad estudiada por el método Radiológico. Como se ha demostrado muchas veces, la acción de una droga depende de las condiciones anímicas a que está sometido el individuo durante la experiencia, lo cual puede producir resultados dispares, por esta razón,

se ha comparado la acción del bromuro de metantelina en un grupo de individuos normales y en otros de ulcerosos, los cuales por lo general están sometidos a conflictos psíquicos.

El Banthine altera el tonus y prolonga el tiempo de vaciamiento del estómago, acción que es mayor que sobre la secreción gástrica, lo que lleva a la suposición de que el fármaco modificaría la sintomatología clínica de la úlcera péptica por su acción inhibidora sobre la función motora.

Los efectos tóxicos del Banthine aparecen más intensos cuando se usan dosis de 100 mlgrs. y consistieron en sequedad de la boca, dificultad en la visión, retención urinaria y constipación.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

- 1.—Se estudia la acción del Banthine en dosis de 50 y 100 mlgrs. sobre la secreción y motilidad gástrica de pacientes con úlcera péptica.
- 2.—El Banthine reduce principalmente el volumen y a través de esto modifica la concentración total de ácido clorhídrico expresado en miliequivalente.
- 3.—Se obtiene anaclorhidria por períodos de 60 minutos o más cuando se usa la dosis de 100 mlgrs.
- 4.—Tanto a la dosis de 50 como 100 mlgrs. el Banthine influye apreciablemente la motilidad gástrica.

SUMMARY

- 1.—The action of 50-100 mgs. of Banthine administered to patients with peptic ulcers, on gastric secretion and motility is studied.
- 2.—Banthine especially reduces the volume of gastric secretion and thus modifies the total concentration of hydrochloric acid, (ex-pressed in milliequivalent).
- 3.—Anachlorhydria for 60 or more minutes is obtained with 100 mgs.
- 4.—Doses of 50 mgs. as well as of 100 mgs. of Banthine have rather great influence on gastric motility.

ZUSAMMENFASSUNG

- 1.—Die Wirkung des Banthin (50-100 mgs.) auf die Magen-sekretion und Motilität in Ulcuspatienten wird studiert.

- 2.—Das Banthine hemmt hauptsächlich die Magensekretion und dadurch die totale Konzentration der Chlorwasserstoffsäure, die in m. eq.
- 3.—Eine Anachlorhydrie für 60 oder mehr Minuten wird durch den Gebrauch von 100 mg. Dosen erwrkt.
- 4.—Dosen von 50 sowohl wie von 100 mg. haben grossen Einfluss auf die Magenmetilität.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—DRAGSTEDT, L. R., HARPER, P. V., TOVEE, E. B. and WOODWARD, E. R.—*An. Surg.* 126: 687-708, 1947.
- 2.—ACHESON, G. H. and MOE, G. K.—87, 220, 1946.
- 3.—LEVINE, E., KIRSNER, J. B. and PALMER, W. L.—*J. Lab. and Clin. Med.* 1620: 34, 1949.
- 4.—LONGINO, F. A., GRIMSON, K. S., CHITTUM, C. R. and MELTALF, B. H.—*Gastroenterology*, 14: 301, 1951.
- 5.—GRIMSON, K. S., LYONS, C. K. and REEVES, R. J.—*J. A. M. A.* 143: 873, 1950.
- 6.—KIRSNER, J. B.—*Mod. Med.* 19: 113, 1951.
- 7.—SMITH, C. A., WOODWARD, E. R., JANES, C. W. and DRAGSTEDT, L. R.—*Gastroenterology*, 15: 717, 1950.
- 8.—HERMANSEN, P. I., CABRERA, R. M. y BIEL, C. F.—*Rev. Med. de Chile* (por publicarse).
- 9.—BACHEM y GÜNTHER.—Barium Sulfat als Schattenbilder des Konstrastmittel bei Roentgenuntersuchungen. Zurich-Roentgen 12.
- 10.—GOLDEN, R.—*Radiologic. Examination of the small intestine*, Philadelphia, J. B. Lippincott. Co., 1949.

Sobre micosis de muguet por tratamiento antibiótico

(Con 2 figuras)

por

Ricardo Schuermann

En un trabajo experimental anterior en animales hicimos alusión a la posibilidad de una micosis de muguet por tratamiento antibiótico. Habíamos observado que por la administración continua y más o menos prolongada de antibióticos no sólo son inhibidos los gérmenes patógenos, sino que también y en forma simultánea, los bacterios simbióticos necesarios para el organismo, hecho que debe tomarse en cuenta, ya que por ello se da libertad a ciertos hongos para desarrollar sus cualidades patógenas. Más allá llegan en la literatura de los últimos tiempos los informes sobre avitaminosis por exclusión de la flora bacteriana intestinal sintetizadora de vitaminas, en el curso de un tratamiento antibiótico.

Personalmente nos llamó grandemente la atención el hongo de muguet, que es considerado muy resistente contra los antibióticos usuales. Este hongo es inhibido en el organismo, en cuanto a sus cualidades patógenas, por una flora bacteriana antagónica, quedando aún por evidenciarse si los bacterios producen sustancias antibióticas contra él o si simplemente el hongo sucumbe en la lucha por la alimentación. Ambas razones pueden considerarse como acertadas.

Hasta la introducción de la terapéutica antibiótica, el hongo de muguet era considerado como un parásito inofensivo que aparentemente provocaba alteraciones inflamatorias más bien graves en las mucosas de lactantes distróficos o en enfermos caquéticos.

Ciertamente, ya se había informado en trabajos anteriores, en forma general, sobre micosis de muguet, en las cuales el hongo se había propagado a varias regiones del organismo después de haber irrumpido en las vías sanguíneas. Así podemos observar que ya en el año 1860, **Zenker** alude a abscesos micóticos metastásicos en el cerebro de un hombre afectado de muguet en la cavidad bucal. En 1879, **Ribbert** cita el hallazgo de autopsia de un niño de 12 días de edad, que presentaba

muguet en las vías digestivas superiores y simultáneamente numerosos microabscesos de la misma etiología en el cerebro. Estos pocos ejemplos comprueban que el hongo de muguet no siempre desempeña la función de parásito inofensivo, que se le ha atribuido hasta hoy día.

Ahora bien, desde la introducción del tratamiento antibiótico, han ido en aumento, especialmente en la literatura anglo-americana, los relatos sobre micosis de muguet. Así tenemos que **Woods, Manning y Patterson** informan sobre bronconeumonías micóticas después de tratamientos con penicilina, aureomicina y cloromicetina. **Zimmermann** cita tres casos de endocarditis micótica, tratada exclusivamente con penicilina. La práctica de autopsia demostró que el hongo de muguet se había establecido en antiguas cicatrices y heridas graves de las válvulas cardíacas, reemplazando al mismo tiempo a los bacterios en el curso de la enfermedad. **Tomaszewski** encontró en más de 100 enfermos, tratados con aureomicina y cloromicetina, alteraciones de la flora bucal, predominando especialmente el micelio de muguet. Igualmente, **Moore** publicó un trabajo sobre un caso de micosis durante el tratamiento con aureomicina. **Cross** encontró, con aplicación local de penicilina en la cavidad bucal, una lengua descolorada, casi negra y atribuye estas alteraciones a un cambio total de la flora bucal, donde, entre otros, especialmente el micelio de muguet desempeña un rol importante. Por último, también **Harris** constató en el tratamiento de la brucelosis con aureomicina y cloromicetina numerosas alteraciones inflamatorias, principalmente en las mucosas bucal, vaginal y anal, encontrándose en la mayoría de estos casos el micelio de muguet. En la literatura alemana, **Scherf** publicó hace poco un trabajo sobre vulvovaginitis y estomatitis monilíásica consecutivas a tratamientos con aureomicina. **Denning** resumió en forma clara y concisa las publicaciones sobre los daños del tratamiento antibiótico. También el suizo **Rossi** informa ampliamente sobre los peligros de una aplicación inadecuada de antibióticos, citando mayores datos bibliográficos. El mismo observó en una meningitis a Pfeiffer tratada con cloromicetina, un grave muguet de la boca, esófago y estómago, provocando intensas hematemesis. En una fibrosis pancreática con bronquiectasias, el tratamiento antibiótico con aureomicina originó una grave monilíasis pulmonar. También **Rossi** opina que los cuadros diarréicos que se observan tan a menudo en lactantes durante un tratamiento antibiótico son causados muchas veces por transformación de la flora intestinal y crecimiento de hongos en el intestino. Así también encontró hongos en la orina de niños que se hallaban en tratamiento antibiótico.

Especial atención merecen sin embargo las investigaciones de **Gallaver** en Venezuela, sobre la frecuencia de micosis de muguet en recién nacidos. De 758 autopsias de recién nacidos en el año 1951, 470 lactantes hasta de 3 días de edad no mostraban muguet aún, mientras de 288 lactantes de 3 a 67 días de edad, 72 estaban afectados por micosis de muguet, cifra que corresponde a un 25%, observándose en estos casos alteraciones inflamatorias en la lengua, faringe, esófago, intestino del-

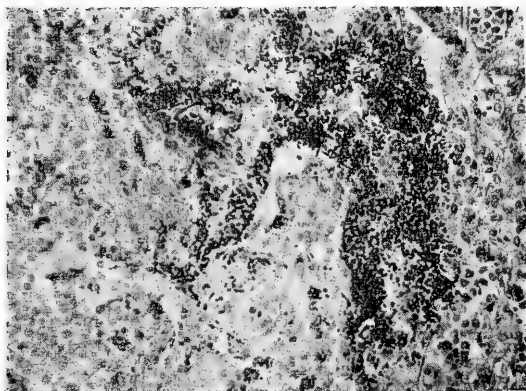


FIG. 1.—Abundantes levaduras de muguet en un bronquio, desarrolladas pobremente en el sentido de hifas. Lo mismo se observa en los alvéolos.

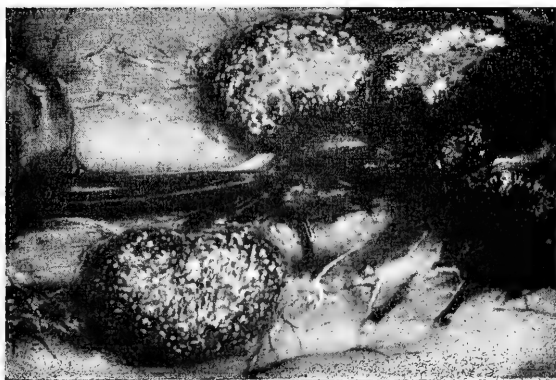


FIG. 2.—Micosis de muguet experimental en el conejo. Abundantes granulomas de muguet de los riñones.

gado, laringe, tráquea, pulmones y en la piel. Un lactante de 22 días había fallecido a causa de una sepsis de muguet generalizada. La mayoría de estos niños (87%) habían recibido antibióticos antes de la enfermedad y durante el transcurso de ella. El autor cree poder deducir de sus investigaciones, que por el uso de antibióticos se favorece el desarrollo de la micosis de muguet. Ha llegado además a la conclusión de que el origen de estas infecciones debe buscarse en su mayor parte en las mamaderas, ya que el 95,1% de los niños enfermos de muguet es alimentado por este método, mientras sólo el 4,9% recibe leche materna. El autor habla de una verdadera epidemia, provocada por infección a causa de las mamaderas y fomentada por tratamientos antibióticos. Estos numerosos informes de tres continentes diferentes deberían disipar las dudas sobre el papel desempeñado por los antibióticos como paso hacia enfermedades de micelios, especialmente de micosis de muguet, que no merecen en absoluto ser menospreciadas.

Desde que dirigimos nuestra atención hacia una posible relación existente entre micosis de muguet y terapéutica prolongada con antibióticos, cada vez es mayor el número de casos en que el muguet es originado sin duda por los antibióticos. De las observaciones de **Finland y Reimann** podemos deducir cuán importante es aclarar esta relación, aconsejando al mismo tiempo el uso adecuado de los antibióticos, para evitar que éstos adquieran un carácter nocivo al ser introducidos en el organismo. Los autores citados declaran que en los EE. UU. más o menos el 90% de los antibióticos es aplicado sin método alguno. Por lo tanto, consideramos de interés dar a conocer nuestros casos autopsiados, para dirigir la atención de los médicos hacia este grave problema.

Caso Nº 1.—Se trata de un prematuro, nacido en presentación de nalgas, de 1.000 grs. de peso y 37 cms. de longitud. Después de nacer, se le introdujo en la incubadora, recibiendo alimentación artificial, oxígeno y vitamina K, aplicándosele penicilina desde un principio. Murió a los dos días, siendo el diagnóstico clínico: Bronconeumonía, lo que fué comprobado en la autopsia.

El examen histológico dió el siguiente resultado: los bronquios y bronquiólos, hasta llegar a los bronquiólos respiratorios, mostraban descamación de su epitelio. El lumen contenía exudado, abundantes hematíes y escasos leucocitos. Con la tinción de Gram podían observarse en el exudado abundantes elementos de muguet, que en parte se habían desarrollado en hifas de muguet (Fig. 1). También un gran número de los alvéolos presentaba descamación de las células de la pared, y en el lumen se observaba exudado con numerosos eritrocitos y escasos leucocitos. Además contenían indeterminable cantidad de levadura de muguet y aisladas hifas de muguet, que en parte habían infiltrado los tabiques a través de la pared alveolar. Ya se había producido la irrupción a las vías sanguíneas. No fué posible constatar otros gérmenes, por lo cual el diagnóstico es el siguiente: Micosis de muguet de los pulmones, con bronquitis purulenta, res-

pectivamente bronquiolitis y focos bronconeumónicos micóticos. Cabe destacar que en el caso presente el prematuro de por sí tenía disposición para contraer una micosis de muguet, pero indudablemente el tratamiento de penicilina fomentó el rápido desarrollo del hongo, llegando en sólo dos días a producirse una micosis de muguet pulmonar letal. Probablemente el contagio se produjo ya durante el parto. Se demuestra así que al usar la penicilina, se obtuvo precisamente el resultado opuesto al que se deseaba, que consistía en evitar una bronconeumonía en el niño. Contrario a las experiencias de Gallaver, la micosis de muguet letal originada por el tratamiento de penicilina ya se produjo antes del 3er. día de vida del lactante.

Caso Nº 2.—Se trata de un adulto de sexo masculino, de 38 años de edad, el cual poseía ya una extensa Historia Clínica sobre una pancarditis reumática. A principios de Enero de 1953 fué internado con el siguiente diagnóstico clínico: Antigua enfermedad reumática, con antiguo infarto del miocardio, enfermedad mitral e insuficiencia cardíaca izquierda. A causa de una pericarditis constrictiva y de un derrame pericardíaco, se le sometió a una intervención quirúrgica, practicándose una pericardiolisis. El paciente fué tratado en forma continua con penicilina y estreptomycin. Murió en el curso del siguiente mes, siendo enviado a nuestro Servicio con el diagnóstico clínico de uremia, que fué constatado al practicársele la autopsia, pero fuera de ello se verificó ya macroscópicamente una intensa inflamación necrótica del esófago inferior. El examen microscópico comprobó, con hematoxilina-eosina, respectivamente tinción de Gram, una intensa inflamación necrótica de toda la mucosa con tupidas extensiones de células de levadura de muguet, que hacia la profundidad se habían desarrollado en hifas de muguet. Además se encontraron numerosas hifas de muguet en los tabiques alveolares de los pulmones, las que habían provocado una reacción inflamatoria intersticial. También en este caso se supone que la micosis de muguet del esófago y de los pulmones fué fomentada por el tratamiento antibiótico y que por él se inhibieron los gérmenes antagonicos al *oidium albicans*, favorecido además por las condiciones metabólicas de acidosis, terreno óptimo para su desarrollo y multiplicación.

Caso Nº 3.—Se trata de un recién nacido prematuro, de 49 cms. de longitud y 1.950 grs. de peso, que ingresó a la clínica a los 42 días de edad. El niño provenía de un medio social precario, había estado sin alimentación durante 5 días, y presentaba al momento de ingreso un estado caquéctico, hipotermia, deshidratación y respiración acidótica. Según el diagnóstico clínico, se trataba de hipoalimentación y dispepsia. El niño murió dos horas después de su ingreso, sin que hubiera hecho efecto el proyectado tratamiento con estreptomycin y Eledón. El diagnóstico de la autopsia fué el siguiente: Otitis media purulenta con mastoiditis derecha. Bacteriológicamente fué posible cultivar en este lugar un diplococo neumónico de gran virulencia. Además se observaba una esofagitis, la cual aún no se pre-

sentaba necrótica al examen histológico, sino que mostraba un epitelio bien conservado todavía, el cual, con la tinción de Gram, se presentaba cubierto por compactas extensiones de cocos y bacilos grampositivos, como también por numerosos micelios de muguet, que se habían desarrollado como hifas. Estas últimas habían penetrado hasta las capas profundas del epitelio. En los pulmones sólo se constató una difusa bronquitis, encontrándose prevalentemente estreptococos y bastoncitos grampositivos, como asimismo aisladas levaduras de muguet. Se puede comprobar que por el rápido deceso aún no se había aplicado un tratamiento antibiótico eficaz. La esofagitis aún no había adquirido el carácter de inflamación necrótica. El hongo de muguet tenía participación en el cuadro patológico, pero no era el factor predominante. Igualmente desempeñaba sólo un pequeño papel en las escasas alteraciones de los pulmones. Probablemente el cuadro hubiera cambiado notablemente con un tratamiento prolongado de estreptomycin; los demás gérmenes habrían emprendido la retirada, dejando campo libre al hongo, como sucedió en los dos casos anteriores.

Por estas observaciones en las autopsias de casos que han sido tratados con antibióticos, nos vemos de ahora en adelante ante la necesidad de preocuparnos más que de costumbre de la participación que pueda caberle al *oidium albicans* en el curso de la enfermedad, para poder proporcionar a la clínica datos exactos, que le sirvan para su procedimiento terapéutico. En cada autopsia sospechosa debiera efectuarse un examen micológico de los órganos en un Instituto Bacteriológico; pero ante todo debiera hacerse la tinción de Gram en los cortes destinados al examen histológico, la cual pondría en evidencia en forma clara al *oidium albicans* grampositivo, en sus diferentes fases.

En nuestros trabajos experimentales anteriores en animales sobre el micelio de muguet y que sólo se habían publicado en forma de resúmenes (**Klose y Schuermann**), habíamos llegado ya a conclusiones muy interesantes: inyectando el hongo directamente en las vías sanguíneas de los animales (los más apropiados son los conejos), dándole así la posibilidad de una acción óptima y evitando la interposición inhibitoria de la flora bacteriana, el hongo desarrolla una acción patógena sorprendente, mientras levaduras corrientes sólo producen síntomas leves. Nos fué posible producir gravísimas sepsis de muguet generalizadas con focos miliares en casi todos los órganos, que a los pocos días produjeron la muerte. El hongo pasa muy rápido de las vías sanguíneas a los tejidos, donde provoca granulomas miliares, que hasta cierto punto semejan a los tubérculos miliares (Fig. 2). Con dosis menores es posible reproducir cuadros patógenos crónicos que tienden a la curación, donde llama la atención la gran afinidad del hongo con el sistema nervioso central. Así pudimos observar en animales de experimentación supervivientes abscesos cerebrales, que habían provocado graves síntomas de carencia. Además, como ya es sabido, es posible obtener un suero inyectando micelios de muguet muertos en las vías sanguíneas. Este suero es capaz de aglutinar al hongo de muguet, produciendo una gran dilución, evitando así la

contaminación de los animales al recibir inyecciones de gérmenes vivos. Aquí reside también la posibilidad de obtener un suero inmunizante para fines diagnósticos y terapéuticos. Un tratamiento realmente causal de las micosis de muguet interiores a mi modo de ver aún no existe. Según **Rossi**, en los EE. UU. las micosis se deberían en su mayor parte al déficit en el complejo de Vitamina B. Según varios autores americanos, el parabeno se ha acreditado como remedio antimicótico, aunque el efecto más bien parece ser profiláctico. La aureomicina ya se combina en EE. UU. en forma sistemática con el parabeno.

Nosotros mismos investigamos bacteriológicamente la aparición del micelio de muguet en las membranas mucosas de personas sanas en Kiel (Alemania del Norte) en el año 1950. De un total de 2.971 frotis de la faringe de individuos sanos, fué posible cultivar el micelio de muguet en 167 raspados, lo que corresponde a más o menos un 5,5%. En la Clínica de Mujeres de la Universidad de Kiel investigamos más adelante 117 mujeres embarazadas, haciendo frotis de la cavidad bucal, de las mamilas y de la vagina. El 23% de los cultivos de la cavidad bucal eran positivos, mientras sólo un 5% lo presentaba tanto en los pezones como en la vagina. Al observar a los respectivos recién nacidos, en ningún caso el micelio de muguet fué encontrado en la cavidad bucal; pero una semana después, ya el 12% de los lactantes lo presentaba, de lo cual se deduce que sin tratamiento antibiótico, el hongo demora una semana en ser comprobado bacteriológicamente. Por lo demás, ninguno de estos lactantes padeció clínicamente de una micosis de muguet, y ninguno había sido tratado con antibióticos.

Ahora bien, si hacemos un resumen de las investigaciones que hemos practicado, llegamos al siguiente resultado:

1.—Los antibióticos representan, tal como las sulfonamidas, un gran enriquecimiento de nuestra medicina y han ya devuelto la salud e incluso la vida a numerosas personas, por lo cual se les ha puesto en las manos de los médicos como precioso tesoro. Su aplicación acertada no es menos difícil que por ejemplo la aplicación de la insulina o de los más eficaces medicamentos para el corazón.

2.—Como todos los medicamentos eficaces, no dejan de ser peligrosos. Su aplicación debe ser dirigida por el médico con el mayor cuidado y sólo bajo indicaciones rigurosas. La forma ideal sería precisando previamente la sensibilidad del respectivo germen in vitro, para poder efectuar un tratamiento con dosificación óptima. Esto no siempre es posible, ya sea por motivos bacteriológicos o de tiempo, pero en todo caso siempre debiera tratar de hacerse. Hoy día existen análisis de sensibilidad, como por ejemplo la prueba de **Walch**, modificada por **Schlipkoeter**, en la cual después de un enturbiamiento que dura 2 a 3 horas, es posible observar la inhibición del crecimiento a través del microscopio de fases contrastadas. Por cierto que los resultados se desvían hasta en un 33% de la prueba de dilución de tubitos, que es sin duda el método más seguro (según **Schlipkoeter**). Fuera de eso hay que evidenciar que los resultados obtenidos por medio del análisis de sensibilidad in vitro

no siempre corresponden a las condiciones del macro-organismo. Por lo tanto, nosotros hemos desarrollado un método de análisis de sensibilidad in vivo por medio del huevo de gallina incubado, destinado al Bacilo de Koch que crece en forma relativamente lenta, pero que ciertamente es todavía muy complicado para la práctica rutinaria (**Schuermann, Klose, Knothe**). Una aplicación sin indicación precisa, ya sea por reflejo condicionado del médico o porque el paciente lo desea, es irresponsable y debe por lo tanto refutarse. Cuanto mayor sea la aplicación inadecuada de los antibióticos, tanto más rápido perderán su valor a causa del cultivo de gérmenes resistentes.

3.—Fuera de los perjuicios conocidos causados por algunos antibióticos y que afectan al organismo directamente, siempre debe tenerse presente que por su aplicación se inhiben gérmenes simbióticos necesarios para el funcionamiento del organismo, produciéndose graves alteraciones, como por ejemplo avitaminosis. Pero ante todo debe observarse que por la inhibición de gérmenes antagónicos se deja campo libre a algunos hongos, especialmente al micelio de muguet, para desarrollar sus cualidades patógenas. Esto es muy importante en el tratamiento de individuos como por ejemplo lactantes distróficos o enfermos graves debilitados, que por su metabolismo acidótico (el hongo tiene preferencia por el medio ácido), están amenazados por el micelio de muguet aún sin haber sido sometidos a tratamiento antibiótico, pero en los cuales, con aplicación de antibióticos, pueden producirse micosis de muguet gravísimas, como demuestran nuestras experiencias propias y especialmente los informes de la literatura angloamericana.

4.—El cuerpo médico no sólo debiera exigir de la Industria Farmacéutica antibióticos con un espectro de acción inmenso, sino que debiera pedir antibióticos con actividad limitada, para hacer posible la mantención de la flora bacteriana simbiótica del organismo, y obtener así una terapéutica sistemática y dirigida. Desde luego que para alcanzar esto, es indispensable la colaboración entre la clínica, el bacteriólogo y el patólogo. Basándose en este principio, en Alemania algunas clínicas universitarias han organizado sus propios institutos de análisis de sensibilidad.

En este país tal medida se hacía necesaria por motivos de índole económica, ya que más del 90% de los enfermos pertenecen a cajas de previsión, y estas entidades se ven en la obligación de reducir en lo posible los gastos destinados a tratamientos médicos. Antes de iniciarse la producción propia de antibióticos, en Alemania éstos eran escasos y ante todo muy caros, por lo cual es fácil comprender que sólo eran aplicados en forma muy discreta y bajo estricta prescripción. Esta es la razón de la escasez de los informes alemanes sobre micosis de muguet originadas por tratamientos antibióticos.

RESUMEN

Se dirige la atención hacia los peligros de un tratamiento antibiótico sin método, demostrando que con una aplicación

continuada de antibióticos pueden desarrollarse gravísimas micosis de muguet, por el hecho de inhibir con ello los gérmenes antagónicos del organismo, dando oportunidad al hongo de muguet para desarrollar sus cualidades patógenas. Una terapéutica sistemática y dirigida es recomendada por lo tanto.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird auf die Gefahren einer planlosen Behandlung mit Antibiotica hingewiesen und gezeigt, dass sich schwerste Soor-mykosen bei fortgesetzter Behandlung mit Antibiotica entwickeln koennen, weil naemlich antagonistische Keime des Koerpers gehemmt werden und dadurch der Soorpilz Moeglichkeit zur Entwicklungs seiner pathogenen Eigenschaften erhaelt. Eine planvolle und gezielte antibiotische Therapie wird befuerwortet.

SUMMARY

Attention is drawn towards the dangers of an aimless application of antibiotics. It is demonstrated that a prolonged treatment with antibiotics leads to the development of extremely grave muguet micosis, for the germs which are antagonic to muguet are inhibited, thus giving the mushroom an opportunity for developing its pathogenic qualities. Therefore a systematic and controled therapy is recommended.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—CROSS.—Brit. med. J. (1949): 171.
- 2.—DENNING.—Dtsch. Med. Wschr. (1952): 1094.
- 3.—FINLAND.—Bull. N. Y. Acad. Med. 27 (1951): 199.
- 4.—GALLAVER.—Rev. Sudamer. Morfol. 10 (1952): 117.
- 5.—HARRIS.—J. amer. med. Assoc. 142 (1950): 161.
- 6.—KLOSE, KNOTHE, SCHÜRMANN.—Aerztl. Wschr. (1951): 881.
Aerztl. Wschr. (1952): 102.
- 7.—KLOSE, SCHÜRMANN.—Zeitschr. Hyg. 134 (1952): 63.
- 8.—MOORE.—J. Labor. a. clin. Med. (Am.) 37 (1951): 703.
- 9.—REIMANN.—Arch. int. Med. (Am.) 89 (1952): 115.
- 10.—RIBBERT.—Sitzungsber. d. niederrhein. Gesellsch. in Bonn (1879): 86.
- 11.—ROSSI.—Helv. Paed. Acta 7 (1952): 397.
- 12.—SCHERF.—Münch. Med. Wschr. (1952): 1869.
- 13.—SCHLIPKÖTER.—Dtsch. Med. Wschr. (1952): 1049.
- 14.—SCHÜRMANN.—Virchows Arch. 321 (1952): 395.
- 15.—SCHÜRMANN.—Bol. Soc. Biol. Concepción (Chile) 27 (1952): 87.
- 16.—TOMASZEWSKI.—J. clin. Path.: 4 (1951): 393.
- 17.—WOODS, MANNING, PATTERSON.—J. amer. med. Assoc. 145 (1951): 207.
- 18.—ZENKER.—Jahresber. Gesellsch. Naturwissensch. u. Heilk. in Dresden (1860-61): 51.
- 19.—ZIMMERMANN.—Arch. of Path. (Am.) 50 (1950): 591.

Las reticulosis y sus relaciones con las hemoblastosis

(Con 4 microfotos)

por

Karl Weber

Las reticulosis se definen como formaciones de tipo tumoral o hiperplasias del sistema retotelial (SR). Este, como sabemos, está constituido por el retículo y las células reticulares o retoteliales, incluyendo las células marginales de los sinusoides de la médula ósea, bazo, ganglios linfáticos e hígado (retículo sinusal). Por su origen a partir de un tejido sincicial, se considera a este retículo fibrillar como resto indiferente del mesoderma fetal.

Por las distintas causas productoras de los diferentes cuadros clínicos, existen diversas clasificaciones de las reticulosis. Para dar una sinopsis clara, mencionaremos la clasificación sencilla de **Uehlinger**:

- 1.—Reticulosis acumulativas.
- 2.—Reticulosis reactivas secundarias a estímulo infeccioso.
- 3.—Reticulosis hiperplásticas.
- 4.—Reticulosis displásticas o neoplásticas.

Son prevalentemente los grupos 3 y 4 los relacionados con las hemoblastosis, y por ello les dedicaremos en forma especial nuestra atención.

Una delimitación clara entre las reticulosis displásticas y las hiperplásticas es frecuentemente difícil, especialmente en las formas de transición con extensión sistémica. Cabe destacar en este lugar que el sarcoma retotelial aislado y localizado en un punto, lejos de ser la regla, constituye la excepción. De ello deducimos que esta reticulosis de tipo neoplástico deberá comprender el sarcoma retotelial y la reticulosarcomatosis. Esta última igualmente puede tomar su origen en una reticulosis hiperplástica por aumento de la malignidad, como ya lo diera a conocer *Ungar* y como personalmente tuviera ocasión de observar un caso en el Instituto de Anatomía Patológica de Frankfurt/Main (S. Nº 26/51).

La leucemia monocítica es en cierto modo el eslabón de unión entre el sistema retotelial y la sangre, por corresponder genéticamente a una retoteliosis leucémica tipo **Schilling**. Desde

el punto de vista hematológico, distinguimos asimismo una leucemia de tipo **Naegeli**, cuadro en el cual los monocitos de la sangre periférica circulante derivan de los mieloblastos, constituyendo formas diferenciadas de la serie mieloide.

En el caso de leucemia monocítica descrito por **Krummel** y **Stodtmeister**, se pudo observar claramente el paso de una leucemia monocítica a una formación mieloblástica por radioterapia, la que, una vez suspendida la irradiación, volvió a su forma monocítica. Comunicaciones con resultados semejantes nos son proporcionadas por **Hittmair**, **Thaddea** y **Bakkalos**. Mientras los citados autores igualan fundamentalmente el mieloblasto y el monoblasto por la transición continua del promielocito (promonocito) a monocito, y consideran recién el mielocito como célula de partida para los granulocitos, **Heilmeyer** y **Begemann** consideran muy posible que "por circunstancias patológicas el monocito no sólo puede derivar del retotelio, sino igualmente formarse a partir de los mieloblastos". Por esta manera de concebir las cosas, resultan relaciones mucho más íntimas entre el sistema retotelial y la sangre.

Antes de abordar el problema de la posibilidad de origen de células mieloides y linfáticas a partir del sistema retotelial, daremos a conocer una observación personal de un caso de leucemia monocitaria.

Resumen de la historia clínica N° 212898 del Hospital Clínico Regional de Concepción: ¹⁾

Trátase de un enfermo de 48 años de edad, sin antecedentes mórbidos de importancia, quien a mediados de Septiembre de 1952 inicia sus molestias con cefaleas, gastralgias y palpitaciones, inicialmente constipación y luego diarreas. Se hospitaliza el día 4 de Noviembre, presentando el enfermo un enfraquecimiento intenso.

El examen físico nos informó de adenopatías inguinales, yugulares y axilares del tamaño de un poroto, aproximadamente, palidez marcada de la piel y mucosas; además nódulos subcutáneos y petequias especialmente en la piel de la región del tronco. El hígado se palpaba aumentado de volumen, doloroso, no observándose esplenomegalia. Temperatura rectal 38,2 C.

Hemograma del 5 de Nov. 52.—Rojos 1.5 millones con 30% de Hb: Leucocitosis de 10.800 con 19 segmentados, 6 baciliformes, 7 monocitos, 0 linfocitos, 40 monoblastos y 28 células reticulares inmaduras. La punción esternal practicada en la misma fecha hizo pensar en una leucemia monocitaria aleucémica de tipo **Naegeli**.

Un nuevo hemograma con fecha 13 de Nov. 52, practicado después de varias transfusiones de sangre total nos dió el siguiente resultado:
Leucocitosis de 21.000 con 15 segmentados, 1 baciliforme, 5 monocitos, 16 linfocitos, 15 monoblastos, 46 promonocitos, 2 mielocitos, junto a plaquetas disminuidas. A pesar de proseguir con las transfusiones, los niveles de Hb se mantienen bajos.

El hemograma practicado el 19 de Nov. dió Rojos 1.5 millones con una proporción de Hb de 25%: Leucocitosis de 81.000 con 5 segmentados, 3 baciliformes, 0 monocitos, 8 linfocitos, 34 células reticulares inmaduras y 50 células primitivas. No se encontraron plaquetas. Reacción de oxidasa negativa.

¹⁾ Se agradece especialmente al Prof. Dr. Ivar Hermansen P., Jefe Sección Medicina Interna del Hospital Regional de Concepción, por facilitar los datos clínicos del caso presentado.

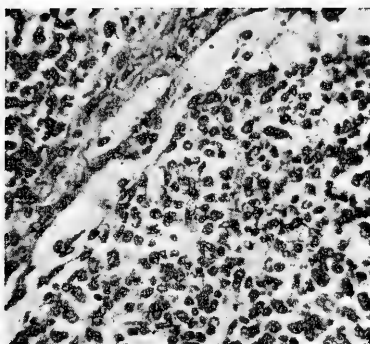


FIG. 1.—Ganglio linfático (J. N. 349/52).

Tinc.: H. E. Aumento: 300 x.

Al lado derecho se ve la infiltración leucémica en la cápsula conjuntival del ganglio.

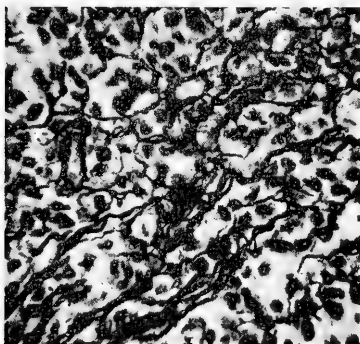


FIG. 2.—Ganglio linfático (J. N. 349/52).

Tinc.: Impregnación argéntica según BIELSCHOWSKI-MARESCH.
Aumento: 460 x.

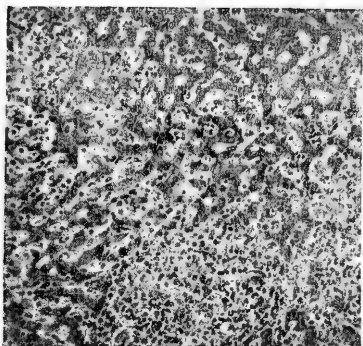


FIG. 3.—Hígado con infiltrados circunscritos y difusos (J. N. 349/52).

Tinc.: H. E. Aumento: 170 x.

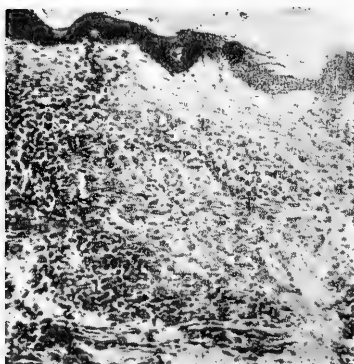


FIG. 4.—Piel abdominal (J. N. 349/52).

Tinc.: H. E. Aumento: 120 x.

Una biopsia del 19 de Nov. (I. N. 2362/52) nos informa acerca de la existencia de células grandes, redondas mononucleares, que no corresponden ni a la serie mieloide ni a la linfática. Diagnóstico: probablemente sarcoma retotelial (Prof. Dr. E. Herzog).

Decaimiento progresivo, aumento de las adenopatías, y junto a ello un incremento de la diatesis hemorrágica conducen a la muerte del paciente, acaecida el 24 de Nov. de 1952, escasos 2 meses de iniciada la enfermedad.

Diagnóstico clínico: Leucemia de tipo monocitario de células inmaduras.

La autopsia practicada 5 horas después del deceso (AN. 349/52, Dr. Schuermann) dió el siguiente resultado:

Intensa tumefacción de todos los ganglios linfáticos, especialmente en la región del cuello, del mediastino, de los ganglios para-aórticos, mesenteriales, inguinales y axilares, como también de ambas amígdalas y del anillo de Waldeyer. Tumefacción de los folículos intestinales, con úlceras múltiples en el íleon. Múltiples infiltrados leucémicos de la piel. Infiltrados leucémicos en ambos riñones, en las pelvis, la pared de la vejiga, la pared gástrica, la adventicia de la aorta y subendocardiales en el ventrículo izquierdo. Hepato- y esplenomegalia leucémica. (Hígado: 3.100 grs., bazo: 500 grs.). Transformación leucémica de la médula ósea del fémur. Hemorragias múltiples: petequias en la piel de las extremidades inferiores, subepicardiales, subpleurales, especialmente en la base de ambos pulmones. Intensas hemorragias subaracnoideas, sobre el lóbulo occipital izquierdo. Atrofia de la corteza cerebral en la región del lóbulo parietal derecho. Hemorragia del tamaño de una lenteja en la médula del lóbulo frontal izquierdo. Hipertrofia y dilatación de ambos ventrículos del corazón. Focos bronconeumónicos en el lóbulo superior derecho. Complejo primario tuberculoso calcificado, del tamaño de un grano de mijo, en el lóbulo inferior izquierdo subpleural.

EXAMEN MICROSCOPICO:

Ganglio linfático: se encuentra una intensa infiltración difusa por células grandes con bastante citoplasma acidófilo. Los núcleos se presentan relativamente grandes, redondos y ovalados, en parte arriñonados y con pequeñas escotaduras, con una red de cromatina disuelta. En aisladas partes se ven abundantes mitosis. Los folículos linfáticos faltan. La cápsula conjuntival está infiltrada en diferentes partes por las células ya descritas (Fig. 1).

Al representar las fibras reticulares, se ven solamente pocas células unidas con el retículo argirófilo; la mayoría se encuentra en grandes agrupaciones en las mallas del mismo (Fig. 2).

Reacción de oxidasa: prevalentemente negativa. Solamente varias células se presentan como cubiertas de polvo negro.

Los diferentes ganglios linfáticos muestran el mismo cuadro.

Bazo: aquí se ve igualmente una intensa infiltración por las mismas células, descritas en el ganglio linfático. Además se observa, fuera de aislados linfocitos y plasmacélulas, bastante hemoderina, tanto intra- como extracelular.

Reacción de oxidasa: negativa.

Hígado: se observa una intensa infiltración difusa, también nodular, de células grandes, con núcleos arriñonados, como ya se ha descrito, principalmente en la zona periportal, pero también en la zona intermedia. Aparte de esto se observan aisladas mitosis. Los capilares intertrabeculares contienen, aparte de pocas células hemáticas típicas, las formas celulares que describiéramos anteriormente. Las células de Kupffer se presentan intensamente tumefactas, y son a veces difícilmente diferenciables de las células intracapilares (Fig. 3).

Con impregnación argéntica, las células de los infiltrados se encuentran en las mallas del retículo.

Reacción de oxidasa: negativa.

Médula ósea del fémur: difusa infiltración del mismo tipo de célula observado ya en el ganglio linfático, en el bazo y en el hígado. Además se ven en algunos lugares bastantes megacariocitos (probablemente del tipo no formador de plaquetas).

Médula ósea vertebral: presenta la misma infiltración leucémica descrita ya en el fémur. Además se ven escasos megacariocitos.

Reacción de oxidasa: negativa.

Piel: infiltración celular en parte difusa, en parte medular, del tipo de las células descritas anteriormente (Fig. 4).

Amígdalas: el cuadro semeja ampliamente a la descripción del ganglio linfático. Aisladamente se ven restos de folículos.

El cuadro clínico y la anatomía macroscópica hablan en favor de una leucosis, y el citodiagnóstico hematológico como también la descripción histológica, demuestran que se trata de una reticulosis con tendencia a leucemia de células monocitarias inmaduras (tipo **Schilling**).

Como diagnóstico diferencial podría plantearse una leucemia monocítica de tipo **Naegeli**, dudando de la génesis retotelial de aquellas células por falta de impregnación argéntica, y porque la mayoría de las células no deja reconocer una manifiesta relación con el retículo. Como no obstante existen numerosas observaciones de sarcoma retotelial sin formación de fibras reticulares, tampoco se puede desechar una génesis retotelial de estas células. También hablan en contra de una leucemia tipo **Naegeli**, la proliferación relativamente marcada de células extramedulares y la reacción de oxidasa negativa. Por otra parte, se han señalado repetidamente en la literatura, células similares (pese a que se derivaron de los retotelios), como linfoblastos patológicos o mieloblastos. Con ello, no sólo se establecerían relaciones de parentesco entre hemoblastosis y reticulosis, sino que también relaciones genéticas. Dice **Fresen**¹ en su reciente comunicación (1953): "que en la vida post fetal, al lado de la monocitopoyesis retotelial, bajo las condiciones de proliferación sanguíneo-celular leucémica, aparecen hemoblastosis retoteliales, las que pueden exteriorizarse poliblastica o hematológicamente indiferentes, en virtud de la multipotencia del SR. No obstante, persiste la interrogante ¿si los hechos comunicados en estas observaciones comprueban la génesis retotelial o sólo pueden ser tomados como hipótesis?

En el capítulo de las mielosis retoteliales (**Fresen**¹) se destaca la comunicación de O. **Ewald**, de una leucemia con 94,75% de células de origen en la sangre con 15.000 leucocitos. Las células dieron una reacción de oxidasa positiva y pudieron ser derivadas histomorfológicamente del SR. Son reconocidas como paramieloblastos o mieloblastos atípicos, que se originarían de células locales pertenecientes al SR. Observaciones similares hicieron **Bykowa**⁽²⁾, **Gittins** y **Hawskley** y son designadas por las "muy seguras relaciones genéticas entre las células mieloides y el SR, como mielosis retoteliales" (**Fresen**¹).

También se comunican observaciones de "linfadenosis reticulares", según las cuales sería posible que el SR se diferenciara en el sentido linfoblástico bajo condiciones patológicas. Fué así como **Sundberg** observó en una leucemia linfática el desarrollo de linfocitos inmaduros de ganglios linfáticos leucémicos e incluso normales, a partir del retículo de la médula ósea. Asimismo demostró uno de los casos de **Roulet** en un sarcoma retotelial, la dependencia de los linfocitos encontrados de las células neoplásicas del retículo. Nos conduciría muy lejos en esta relación profundizarnos en la copiosa literatura acerca de

combinaciones o insinuados estados de transición de retoteliosis a leucemia linfática (**Loesch, Apitz**), de sarcoma retotelial a leucemia linfática (**Ahlstroem**) y aún de sarcoma retotelial a linfosarcoma (**Oliveira, Rössle**). Digno de mencionarse es la transformación de células reticulares en linfocitos bajo condiciones fisiológicas, según lo observó **Meyer**.

También para los tumores plasmacelulares demostró **Fresen**² por la representación de una red fibrilar argirófila un paralelo muy evidente con la estructura propia del SR, de lo que deduce un origen histomorfológicamente retotelial de las plasmacélulas proliferadas.

En vista de que **Fresen**¹ pudo comprobar en una eritroblastosis un crecimiento celular eritroblástico diferenciado de génesis reticulohistiocitaria, puede concluirse que, bajo condiciones patológicas, muy probablemente todas las formas de hemoblastosis reconozcan un origen retotelial. Debe sin embargo advertirse, que no puede reconocerse de antemano en forma general un origen retotelial para toda célula leucémica proliferante, más aún, sólo en aislados casos se han encontrado leucosis retoteliales propiamente genéticas (**Fresen**). De todas maneras, aún cuando estas observaciones no son sólo suposiciones, sino que corresponden a realidades, se desprende de ellas una estrecha relación entre células sanguíneas y reticulares.

Las mencionadas opiniones acerca de mielosis y linfadenosis retoteliales no han quedado aceptadas plenamente. **Rössle** (1939), tal vez uno de los más reconocidos investigadores en este terreno, describe las mismas células redondas, mononucleares, en la red sincicial del sarcoma retotelial, en las cuales admite una gran similitud con linfoblastos; pero advierte expresamente que jamás se ha podido convencer de la formación de típicos linfoblastos y menos aún de linfocitos.

De interés en el problema de la génesis retotelial de algunas hemoblastosis son las recientes investigaciones de **Piringer-Kuchinka** (1951) de la médula ósea en cortes de congelación sin fijación y teñidos con hematoxilina de **Ehrlich**. Pudo comprobarse que la médula ósea con todos sus elementos representa una red sincicial formada no sólo por las células retoteliales sino también por las diferentes células de la médula: preferentemente células inmaduras y otras más o menos maduras, unidas entre sí y con las células reticulares por prolongaciones plasmáticas. Las células específicas de la médula no son redondas, sino que presentan un aspecto redondo-esquinado, a veces con prolongaciones filiformes. Observaciones similares hizo **Feyrter** en el tejido conjuntivo laxo y **Eger** en los ganglios linfáticos. También con la impregnación de plata, según **Bielschowsky-Maresch**, aplicada a cortes incluidos en parafina, pudimos representar un sincicio reticular en focos redondo-celulares de las suprarrenales.

Además se encuentran en las mallas de la red sincicial muy pequeñas formaciones nucleares, descritas por primera vez por **Feyrter** y que él interpretó como una carionomía. Por los medios comunes de congelación se las ha interpretado casi siempre como restos nucleares. Según **Piringer-Kuchinka** debería atribuirseles el poder de formar reservas indiferenciadas, que en caso de urgencia evolucionarían rápida-

mente a células funcionalmente maduras, porque presentan una reacción nuclear positiva según Feulgen. Tal vez se trate en estos casos, según Feyrter, del desarrollo de elementos celulares semejantes a las "células dormidas" de Grawitz.

De estas observaciones se desprende que en la formación de la red sincicial reticular no sólo intervienen células retoteliales, sino que también los más variados tipos de células de médula ósea. En vista de estos hechos, deben tomarse como erradas las informaciones de Meyer y Sundberg, según los cuales también se pueden formar en ganglios normales linfocitos a partir de células reticulares. Sin lugar a dudas se trata en este caso de células que se han desprendido del sincicio reticular siguiendo su desarrollo a linfocitos, pero no de las células reticulares mismas, sino de células específicas con potencia linfocitaria, que pueden estar unidas con las células retoteliales por prolongaciones citoplasmáticas y filiformes. La génesis retotelial de algunas hemoblastosis en el sentido expuesto por Fresen queda con esto sin demostración. Más bien opinamos que las formas primitivas de las diferentes células sanguíneas deben buscarse junto a las células retoteliales en el retículo y que en parte se encuentran unidas a ellas por prolongaciones citoplasmáticas. Las células primitivas de los elementos sanguíneos no son idénticas por lo tanto con las células retoteliales, pero sí anatómicamente ligadas a ellas, formando por esto hasta cierto punto una unidad. Por este último motivo parece poco indicado hablar de dos sistemas diferentes.

Si por una parte sostenemos una diferente potencia formadora de las distintas células primitivas en el retículo, por otra parte opinamos que fuera de la unidad anatómica, también representan una unidad funcional, que se manifiesta por correlación, desconocida todavía, semejante a la función de las glándulas endocrinas. Así se explica la en mayor o menor grado evidente hiperplasia retotelial en algunas leucosis, como una proliferación reactiva acompañante (Benecke). Las en ocasiones observadas combinaciones de retoteliosis o de sarcoma retotelial con una leucemia linfoide o mieloide, son simplemente un paso más en el aumento de la malignidad y estriban en la desviación de un todo funcional bajo preferencia de dos o más formas celulares que se encuentran en condiciones de interrelación especial. Los procesos están combinados, pero pueden desarrollarse separadamente como demuestran las observaciones de Apitz, Loesch y Richter en casos de combinación, con proliferaciones retoteliales y leucémicas bien delimitadas entre sí, de los ganglios linfáticos.

Con esto creemos tener que rechazar la creencia de la génesis retotelial de algunas hemoblastosis, es decir de la formación de linfocitos y leucocitos a partir de células reticulares. En los casos citados se trata más bien del desarrollo de células sanguíneas derivadas de sus células primitivas localizadas en el retículo.

La representación de las células sanguíneas y reticulares quedaría incompleta si no se considera el lugar que ocupan las plasmacélulas. Si Fresen pudo representar por técnica argéntica en un caso de mieloma plasmocitario una red fina con célu-

las plasmáticas en sus mallas, esto es perfectamente explicable por el crecimiento tumoral y se puede considerar como paralelo al sarcoma retotelial. A sus conclusiones sin embargo, de atribuir al parénquima retotelial "distintas diferenciaciones proso-plásticas", por la estructura constante del estroma, no nos podemos adherir después de las consideraciones que adelantamos. Probablemente la célula plasmática está más relacionada con las células retoteliales que la célula sanguínea, por lo cual podría explicarse la formación de fibras argirófilas en este caso de **Fresen**². Por lo tanto, basados en observaciones propias de mieloma múltiple, quisiéramos sostener la individualidad de las plasmacélulas. Histológicamente se encontró en varios cortes de una biopsia (IN 1715/53) de un mieloma de la clavícula, del tamaño de un puño, una gran infiltración difusa de células redondas hasta ovaladas, con grandes núcleos, algunas con nucléolos bien nítidos y aisladas células gigantes; faltan los eosinófilos y las plasmacélulas típicas. Las células reticulares típicas se presentan muy escasas. Apoyándose en los trabajos de **Jackson** y **Parker**, se sospechó un sarcoma de **Hodgkin**. De los frotis hematológicos hechos del jugo de la misma muestra, que gentilmente facilitó el Dr. **Meyer**¹⁾ pudimos convencernos que en la mayoría de los casos se trataba de plasmacélulas. También las células gigantes mostraban estructuras de núcleos de células plasmáticas y eran diferenciables de las células reticulares. La muestra corresponde a un mieloma inmaduro según la clasificación de **Forteza**. Clínicamente no había duda alguna sobre el carácter de mieloma, por los múltiples focos óseos e hiperproteinemia.

De esta observación se deduce que a la histología con sus métodos corrientes de tinciones se marcan límites para la interpretación de células sanguíneas, especialmente cuando se trata de formas inmaduras cercanas a las células primitivas. Deducciones respecto a su génesis sólo se pueden hacer por métodos especiales, como la tinción de cortes de congelación sin fijación. Creemos poder deducir por otra parte por la identificación de las células plasmáticas completamente inmaduras y sus cambios a células gigantes sin pasar a células reticulares típicas, su origen de alguna forma primitiva propia y con esto su independencia.

Si se ha trazado un límite preciso entre las diferentes células sanguíneas y las células reticulares, rechazándose por ésto la hemoblastosis retotelial, esto es la formación de hemoblastos de células retoteliales, debemos definir bien a estas células. Etimológicamente significa célula retotelial una célula reticular basal en un esqueleto de fibras en enrejado, bañadas por los plasmas (**Rössle**). Ya que las formas primitivas de las diferentes células sanguíneas están unidas entre sí y con esas "células retoteliales" por una red argirófila de prolongaciones plasmáticas, representan según la definición células retoteliales. Deben ser delimitadas por su estructura diferenciada, demostrable por

¹⁾ Agradecemos al Dr. **Meyer**, de la Sección de Hematología del Hospital Regional de Concepción, su gentileza de facilitarnos los frotis.

métodos apropiados, para evitar errores de concepto. Lo mismo vale para las células plasmáticas. Si no denominamos a las células retoteliales —en el sentido usual— como formas primitivas definibles, se debe esto a que se diferencian diversas formas según su morfología y función.

Así distingue **Lennert** tres tipos en el ganglio linfático:

- 1.—La célula retotelial acidófila, cuya forma patológica sería la célula epitelióide.
- 2.—La célula retotelial basófila o macrolinfocito basófilo con la célula de **Hodgkin** como variante patológica.
- 3.—La célula retotelial no diferenciada, de la cual han derivado los tipos 1 y 2.

No discutiremos en este trabajo si se deben diferenciar otras formas en otros órganos, tampoco consideraremos si se trata en estas células retoteliales de formas primitivas específicas o si representan ya grados de desarrollo primitivo.

Sólo respecto a la formación de monocitos mencionaremos que debemos buscar en una de estas formas de células retoteliales a la célula madre del monocito; podría tratarse de una célula muy parecida a la célula retotelial acidófila, si no idéntica. Rechazamos el origen del monocito a partir del mieloblasto por las mismas razones, que tampoco se ha demostrado el origen de células mieloides y linfáticas de una célula retotelial omnipotente. Según estos conceptos, no existe el tipo de leucemia monocítica de **Naegeli**. Las observaciones relacionadas en este sentido podríamos considerarlas como leucemia de células primitivas de la línea mieloides, como ser una leucemia paramieloblástica.

La relación de las reticulosis (esto es proliferación hiperplástica o displástica de células retoteliales según la antigua definición) con las hemoblastosis, podría buscarse en alternancias entre las más variadas células primitivas, diferenciadas por su potencia prospectiva, que se condiciona por su asimilación conjunta al retículo y a las uniones plasmáticas entre ellas.

RESUMEN

- 1.—En la constitución del retículo pueden participar fuera de las células retoteliales propiamente dichas, las formas primitivas de las más variadas células sanguíneas. Ellas están unidas entre sí y con las células retoteliales por prolongaciones citoplasmáticas, como se ha observado en investigaciones tanto de la médula ósea (**Piringer-Kuchinka**) como de los ganglios linfáticos (**Eger**).
- 2.—Las formas inmaduras, unidas todavía por prolongaciones plasmáticas, se denominan células primitivas. Cada forma de célula sanguínea tiene su célula primitiva, que se diferen-

cia de otras formas y de las células retoteliales por su potencia determinada.

- 3.—Las plasmacélulas también poseen una forma primitiva propia, lo cual es discutido por el autor.
- 4.—En las hemoblastosis se trata de proliferaciones hiper- o displásticas de un tipo bien definido de células primitivas con o sin diferenciación a la forma celular sanguínea correspondiente.
- 5.—Se comunica una observación de un caso de retoteliosis con transformación en leucemia monocítica, discutiéndose el origen de los monocitos en general. Como célula primitiva del monocito podría considerarse la célula retotelial acidófila grande. La formación de monocitos a partir de mieloblastos (**Naegeli**) es poco probable, aún en condiciones patológicas. Las leucemias monocíticas del tipo **Naegeli** se consideran como leucemias mielóideas de células primitivas o leucemias paramieloblásticas.
- 6.—Las reticulosis y hemoblastosis están correlacionadas funcionalmente, reforzadas por la disposición reticular de todas las células primitivas junto a las retoteliales. Las hiperplasias retoteliales observadas ocasionalmente en la leucemia se interpretan por esta razón como reticulosis acompañantes.

ZUSAMMENFASSUNG

- 1.—An der Bildung des Retikulums können ausser den eigentlichen Retothelzellen auch die primitiven Formen der verschiedensten Blutzellen beteiligt sein. Sie sind mit den Retikulumzellen und unter sich durch plasmatische Fortsätze verbunden, wie Untersuchungen am Knochenmark (**Piringer-Kuchinka**) und Lymphknoten (**Eger**) ergeben haben.
- 2.—Die unreifen, noch retikulär gelagerten Formen, werden als Primitivzellen bezeichnet. Für jede Blutzellform liegt eine Primitivform vor, die sich durch ihre prospektive Potenz von einer anderen Primitivform und von den Retothelzellen unterscheidet.
- 3.—Auch die Plasmazellen besitzen eine eigene Primitivzelle, was an einer eigenen Beobachtung diskutiert wird.
- 4.—Bei den Hämoblastosen handelt es sich um hyperplastische oder dysplastische Wucherungen eines bestimmten Primitivzelltyps mit oder ohne höhere Differenzierung zu der entsprechenden Blutzellform.
- 5.—Es wird eine Beobachtung von Retotheliose mit Uebergang in Monocytenleukämie mitgeteilt und die Entstehung der Monocyten im allgemeinen erörtert. Als Stammzelle der

Monocyten dürfte die grosse oxyphile Retothelzelle angesehen werden. Eine Entstehung der Monocyten aus Myeloblasten (**Naegeli**) ist auch unter pathologischen Bedingungen unwahrscheinlich. Beobachtungen von Monocyten-Leukämien des Types **Naegeli** werden als unreife myeloische Stammzellen-Leukämie oder Paramyeloblasten-Leukämie aufgefasst.

- 6.—Die Beziehungen der Retikulosen zu den Hämoblastosen bestehen in funktionell-wirksamen Korrelationen, unterstützt durch die netzfoermige Lagerung saemtlicher Primitivzellen neben den Retothelzellen. Die bei Leukämien gelegentlich beobachteten retothelialen Hyperplasien werden deshalb als Begleitretikulosen aufgefasst.

SUMMARY

- 1.—The reticulum seems to be formed by actual reticulum-cells and in addition by the primitive forms of many different blood-cells. These are connected among them and the reticulum-cells with plasmatic prolongations, as shown by investigations in bone marrow (**Piringer-Kuchinka**) and lymph nodes (**Eger**).
- 2.—The immature forms — still reticularly — are called primitive one, different because of their determined potency — from other primitive and rethotelial cell forms.
- 3.—The observation that plasmatic cells also have their own primitive forms, is discussed.
- 4.—Hemoblastosis is considered as a hyperplastic or dysplastic proliferation of one particular type of primitive cell with or without higher differentiation of the corresponding blood cell form.
- 5.—A case of retotheliosis is reported which transformed itself in monocytic leukemia, and the origination of monocytes in general is discussed. The great acidophil retothel cell is considered to be the primitive monocytic cell. It is very unlikely that myeloblasts give rise to monocytes (**Naegeli**) even under pathological conditions. Monocytic leukemias of the **Naegeli** type are considered as immature myeloid primitive cell leukemias or paramyeloblastic leukemias.
- 6.—Reticulosis and hemoblastosis are functionally correlated and reinforced by the reticular disposition of all primitive and retothelial cells. Retothelial hyperplasias which are sometimes observed in leukemia, are therefore interpreted as accompanying reticulosis.

BIBLIOGRAFIA

- AHLSTROEM, C. G.—Virch. Arch. 301, 49, 1938.
- APITZ, K.—Virch. Arch. 304, 65, 1939.
- BENECKE.—Virch. Arch. 306, 491, 1940.
- BYKOWA.—Fol. haematolog. (Lpz) 43, 475 (1931).
- BYKOWA.—Fol. haematolog. (Lpz) 51, 96 (1934).
- EGER, W.—Verh. dtsch. Path. Ges. 35. Tagg, 194, 1951.
- EWALD, O.—Dtsch. Arch. klin. Med. 142, 222, 1923.
- FEYRTER, F.—Verh. dtsch. Path. Ges. 35 Tagg., 195, 1951.
- FORTEZA, G.—Atlas de hematología. Valencia, 1952.
- FRESEN¹, O.—Virch. Arch. 323, 312, 1953.
- FRESEN², O.—Verh. dtsch. Path. Ges. 35 Tagg., 171, 1951.
- GITTINS y HAWSKLEY.—Am. J. of Path. 36, 115, 1933.
- GRAWITZ, P.—Ver resumen de trabajos de
- BUSSE-GRAWITZ, P.—Experimentelle Grundlagen zu einer modernen Pathologie, Benno Schwabe 86, 1946; Schweiz. Med. Wschr. Nº 6, 136, 1951.
- HEILMEYER, L. y BEGEMANN, H.—Handb. inn. Med. Bd. II, S. 718.
- HITTMAYER, A.—Dtsch. Arch. klin. Med. 140, 148, 1922.
- JACKSON y PARKER.—Cit. Heilmeyer-Begemann.
- KRUMMEL, E. y STODTMEISTER, R.—Dtsch. Arch. klin. Med. 179, 273, 1936.
- LENNERT, K.—Frankf. Z. Path. 64, 209, 1953.
- LOESCH, J.—Frankf. Z. Path. 44, 351, 1933.
- MEYER, G.—Z. Zellforschg. 32, 435, 1942.
- OLIVEIRA.—Virch. Arch. 298, 464, 1936.
- PIRINGER-KUCHINKA, A.—Verh. dtsch. Path. Ges. 35. Tagg., 193, 1951.
- RICHTER.—Amer. J. Path. 4, 285, 1928.
- ROESSLE, R.—Beitr. path. Anat. 103, 385, 1939.
- ROULET, F.—Virch. Arch. 286, 702, 1932.
- SUNDBERG.—J. Labor. a. Clin. Med. 32, 777, 1947.
- THADDEA, S. y BAKALOS, D.—Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 51, 404, 1939.
- UEHLINGER.—Beitr. path. Anat. 83, 719, 1930.
- UNQAR, H.—Zbl. path. Anat. 91, '59, 1933.

La gallina araucana (x)

Estudios genéticos 1ª Comunicación

por

Ottmar Wilhelm G.

La "Gallina Araucana" es, según **Castelló, S.** ⁽¹⁾; **Jull** ⁽⁴⁾; **Punnet** ^(5, 6); **Vosburgh** ⁽⁷⁾ y otros ^(8, 10), la única gallina doméstica que pone huevos cuya cáscara es de un color verdoso o azulejo u oliváceo más o menos intenso.

Algunos autores describen además diversos caracteres somáticos típicos (como los aretes y otros que referiremos más adelante) para esta raza, que se está criando en Estados Unidos de Norte América por Ward Bower Jr. desde 1930, a partir de un trío que le envió desde Chile el Prof. **Juan Sierra**. Actualmente existen en Estados Unidos numerosos criaderos que reproducen estas gallinas originarias de Chile y mantienen el "International Araucana Club" que preside el Prof. **Ivan N. Cuthbert** de la Universidad de Michigan, Ann Arbor. Ya el 15 de Febrero de 1950 contaba dicho Club con 77 asociados que crían estas gallinas, y se ha logrado obtener por cruzamiento y selección diversas variedades de esta raza (Cuthbert Araucanas; Brower's Araucanas; Blue-Egg Laying Araucanas, Wright; Black-Breasted Red Araucanas; Auker, etc., etc.), lo que permite llevar ahora un cierto control genético de estas aves.

Es extraño, que siendo originaria esta gallina del Sur de Chile, no se haya realizado en nuestro país (excepto las observaciones inéditas del distinguido y prestigioso avicultor chileno el Prof. **Juan Sierra**), ningún estudio sistemático, ni publicación científica sobre este problema, hasta la presente fecha.

Ya durante el siglo pasado había llamado la atención, a numerosos observadores especialmente viajeros extranjeros en nuestros puertos chilenos, este característico color verdoso o azul de los huevos de algunas gallinas rústicas del campo, espe-

(x) Trabajo entregado a la Redacción el 29 de Agosto de 1953 y presentado a la Soc. de Biología de Concepción (Chile) en su sesión del 21 de Octubre con demostración del material y diferentes fenotipos vivos, fotografías y láminas en colores.

cialmente frecuentes en el Sur de Chile, incluso en la isla de Chiloé y que se han extendido por toda la costa del Pacífico en la América del Sur. Sólo en 1914 cuando visitó a Chile el célebre profesor de avicultura español **Salvador Castello**, entusiasmado con este hallazgo, llamó a esta variedad de gallinas de los huevos azules, por su frecuencia entre los indígenas araucanos del Sur de Chile, "Gallina Araucana", lo que comunicó por primera vez en el 2º Congreso Mundial de Avicultura en Barcelona en 1924 ⁽¹⁾. Este es el origen del nombre de esta raza.

M. A. Jull en un artículo "The Races of Domestic Fowl" publicado en 1927 en *The National Geographic Magazine* ⁽⁴⁾, describe y reproduce la "Gallina Araucana" en un cuadro en colores (huevos de color azul, gallina sin cola, con aretes, cresta pequeña, etc.). En 1931 el Dr. **R. C. Punnet** menciona a esta gallina en *Feathered World* ⁽²⁾ en Inglaterra y realiza los primeros cruzamientos de estas aves cuyos resultados publicó en el *Journal of Genetics*, Cambridge ⁽⁶⁾ en 1933. **Frederick G. Vossburgs** publica en 1948 un artículo en *The National Geographic Magazine* ⁽⁷⁾ como se ha originado en Estados Unidos el interés por criar estas gallinas por Ward Bower Jr. y los resultados obtenidos hasta esa fecha.

El Dr. **Alexander Wetmore**, Research Associate, distinguido ornitólogo del National Museum — Washington, nos comunicó que, cuando estuvo en Chile, le llamó la atención el color azul de los huevos de estas gallinas y consiguió después desde Valparaíso también un trío de ellas, que se conservaron durante varios años en el Parque Zoológico del Smithsonian Institution, donde pusieron un apreciable número de huevos de este color.

También el Dr. **Walter Landauer**, profesor de Genética de la Storrs Agricultura Experimental Station de la Universidad de Connecticut U. S. A. nos dice, que importó hace años gallinas desde nuestro país; pues estaba muy interesado en estudiar estas aves; pero desgraciadamente no tenían, ni reprodujeron en sus descendientes las características descritas (falta de cola, los típicos aretes), por lo cual no publicó el resultado de sus trabajos.

Morley A. Jull, Head of Poultry, Department Agricultura Experimental Station de la Universidad de Maryland, nos escribe que "la Gallina Araucana se encuentra sólo en Chile y el Perú y fué descubierta en 1914; pero su origen no ha sido esclarecido en forma definitiva. Su plumaje varía notablemente; pero la Gallina Araucana es la única que pone huevos azules. Muchas aves presentan un peculiar crecimiento de plumas a ambos lados del cuello".

Gracias a **Marlow W. Olsen**, del Agricultural Research Center, United States Department of Agriculture, Beltsville Maryland, tenemos la lista de los criaderos de Gallinas Araucanas en Estados Unidos, y de éstas, sus respectivas informaciones que coinciden y se complementan con las proporcionadas gentilmente por **Ivan Cuthbert** de la Universidad de Michigan, Ann Arbor.

En Chile, el Prof. **Juan Sierra** después de haber enviado las aves mencionadas a Ward Bower Jr., se dedicó por un cierto tiempo a criar estas gallinas a partir de huevos que obtuvo de los reductos araucanos de Padre Las Casas cerca de Temuco; pero nos escribe: "nunca pude obtener herencia continuada de ninguno de los caracteres (aretas, huevos azules o colloncas)".

El Prof. **Sierra** dejó de criarlas por varios inconvenientes que enumera, y termina con la siguiente afirmación "Entre nuestros avicultores ya no existe esta gallina; pues como se insistió en criarlas sin cola y como genéticamente este defecto acarrea un gene letal, su exterminio ha sido rapidísimo".

Acerca de su origen, existen las más variadas hipótesis, incluso que se haya formado por cruzamiento, de la gallina doméstica traída por los españoles, con el tinamú sudamericano, lo que según los técnicos, como el Dr. **A. Wetmore** de la Smithsonian Institution y otros, sería improbable.

Nosotros comenzamos nuestras observaciones sólo después de un viaje a California en 1944, donde un cultísimo colega de la Universidad de Berkeley nos consultó acerca de estas gallinas. Al regresar en el Buque Escuela Lautaro de Estados Unidos, recalamos en la Isla de Pascua (III. 1944), donde pude comprobar la existencia de algunas pocas gallinas que ponían también huevos azules. Surgió en nosotros la pregunta: son estas pocas gallinas también autóctonas de la Isla de Pascua?, o ¿han sido estas gallinas de huevos azules llevadas de Chile a Pascua?, o ¿viceversa? Recordaremos que se sostiene por un lado que la gallina doméstica no existía en la época precolombina, sino que fué introducida por los españoles, y que sólo algunas variedades de patos en Sud-América y los pavos en Norte América, eran aves propias del Nuevo Continente.

Sin embargo **Latham, R. E.** (*) y otros ⁽¹⁰⁾ sostienen que la gallina existía en el Perú y Chile en la época precolombina.

Por el otro lado sabemos que cuando fué descubierta la Isla de Pascua por Roggeveen el 5. IV. de 1722 [véase el informe de Karl Friedrich Behrens, que hemos traducido del alemán en nuestro primer viaje a Pascua en la Baquedano en 1934 y publicado en la Revista Marina (*)], existían en dicha Isla, gallinas en grandes cantidades, pues los nativos obsequiaron a los holandeses más de 500 gallinas vivas. "Estas gallinas se parecen (ähneln) a las Europeas" (x, pág. 5). No eran por consiguiente iguales, y que se criaban en la Isla de Pascua desde que había desembarcado el rey Hotu Matua. Además, la gallina entre los primitivos pascuenses formaba parte de ritos religiosos y costumbres antiquísimas. Según **Metraux** (**, pág. 43) "la hipótesis de que los pascuenses provienen de Mangareva, presenta dos dificultades. En primer lugar los pascuenses no podían traer sus gallinas de Mangareva, porque allí no las hay".

(*) **Wilhelm, O.**—"Isla de Pascua". Rev. de Marina (Armada de Chile), Tomo LI, Nº 464, Enero/Febrero 1935, págs. 1, 2, 21.

(**) **Metraux, A.**—"La Isla de Pascua", Fondo de Cultura Económica México-Buenos Aires, 1950, págs. 43 a 79.

Por otra parte se sostiene el origen asiático de la gallina pascuense. Finalmente no olvidemos que se han encontrado en un antiguo cementerio prehistórico y conchal de Cartagena por los Drs. **Oyarzún** y **Aichel**, puntas de lanza de obsidiana de la Isla de Pascua (***). Hallazgo que formula una hipótesis de las relaciones de los hombres neolíticos de nuestra costa chilena con los de la antigua cultura pascuense.

Se plantea así, con respecto al origen de la Gallina Araucana, un problema de la mayor trascendencia, porque tiene un alto interés y gran valor científico de las más variadas proyecciones.

Cuando se interesaron los genetistas norteamericanos por la "Gallina Araucana", ya mucho tiempo antes, los caracteres que se atribuyen a esta pretendida raza chilena, estaban ya a fines del siglo pasado y están hoy, con mayor razón aún, tan mezclados con los de otras razas, que prácticamente es muy difícil establecer, cual de estos caracteres son típicos y propio de la Gallina Araucana.

Desde luego, el color del huevo es un carácter típico fundamental y exclusivo. En cambio los aretes, la falta de cola (tipo coyoncas), la cresta pequeña carnosa y el plumaje descrito por algunos autores es de lo más variado y no se ha podido fijar aún.

Nuestras observaciones personales

Hemos reunido en 1944 en nuestros gallineros particulares más de 100 gallinas rústicas del campo de los alrededores de Concepción y principalmente procedentes del Sur de Chile que ponían huevos de color azul, verdoso u oliváceos. El carácter somático de ellos era de lo más heterogéneo. Había, en lo que respecta al plumaje, de todos los colores y en relación con el cuerpo, formas, tamaños y pesos muy diferentes. A pesar de nuestra afanosa búsqueda de gallinas con aretes, cuando las encontramos, no ponían huevos de los colores típicos mencionados, sino blancos o cremosos. Sólo una gallina blanca pequeña tenía aretes y ponía pequeños huevos azules; pero era muy mala ponedora; también una castellana pequeña tipo barreado con aretes y huevos rojizos (que pueden dar origen a huevos verdes, según Bowers cit. por **Vosburgh**) las hemos conservado. También había negras de cuello pelado que ponían grandes huevos de color azul. En lo que respecta al color del plumaje, existía una mayor frecuencia de colores oscuros, especialmente negras, o negras con cuello jaspeado de amarillo o rojizo; otras amarillas jaspeadas; otras barreadas; blancos con manchas amarillas o café; y en algunos se reconocía la mezcla con razas clásicas conocidas, Plymouth Rock, Catalanas o Rhode Island, etc., etc.

De estas gallinas seleccionamos, a las que no revelaban un fenotipo conocido y que ponían huevos verdosos o azulejos in-

(***) **Oyarzún, A.**—"Puntas de lanzas paleolíticas de la Isla de Pascua, encontrados en un cementerio prehistórico de la costa de Chile". En Publicaciones del Museo de Etnología y Antropología de Chile. Tomo IV, Nos. 3-4, Santiago de Chile, 1927.

tenso y los dividimos en 1944 en dos grupos. Las más pequeñas de tipo mediterráneo y las más grandes de tipo carne; entre estas últimas las barreadas, para los efectos del cruzamiento.

El problema era elegir el macho para el control genético. Como en las gallinas el gallo es monogámico y la hembra digámica y con un ovario, resolvimos cruzar por la diferencia de tamaño y peso el primer grupo (A) con gallos Menorcas y las segundas (B) con gallos Plymouth Rock. En F_1 la primera generación nacida en la primavera de 1945 nos proporcionó en el primer grupo una relativa dominancia en negro, pero había varios fenotipos también con el carácter de herencia intermedia, incluso aparecieron varios cuellos pelados iguales a su madre. En el segundo grupo la dominancia barreada fué casi absoluta 100%; pero entre los pollos había además de los de colores plover obscuro con la típica mancha amarillenta en la cabeza, también pollos completamente blancos; pero que al emplumar tomaban el tipo barreado un poco más claro que la Plymouth Rock. Los heterocigotos de estos dos grupos dieron fenotipos muy heterogéneos, tanto en las pollas como en los gallos. Los huevos de esta primera generación durante el año 1946 fueron también muy heterogéneos; pues había de todos los colores, blancos, crema, café, rojizo y sólo muy pocos (menos de un 10%) de huevos azules o verdosos u oliváceos. En 1946 realizamos el "inbreeding" de las gallinas seleccionadas. Asimismo de las pollas incubamos también sólo los huevos de color azules, verdosos y oliváceos cruzados con los gallos de F_1 .

De las pollas F_1 que ponían estos típicos huevos araucanos había del 1er. grupo (A) principalmente negras tipo Menorca (por los padres) negros de cuello pelado, negros con cuello amarillo jaspeado; amarillos jaspeados de plumaje tipo perdiz, etc. En cambio, del 2º grupo (B) había barreadas claras y barreadas oscuras y blancas con cuello barreado.

Entre los gallos F_1 del grupo A había negros tipo Menorca parecidos al padre; negros con orejuelos blancos con cuello amarillos o café (estos dos tipos con cresta caída o con cresta en sierra derecha); además había gallos negros y negros con plumas café y cuellos pelados con copete y sin copete, lo mismo como entre las pollas hermanas. Como gallos reproductores dejamos negros puros y negros de cuello pelado.

En estos últimos para cruzarlos con las gallinas y pollas de cuello pelado de huevos verdes. Entre los machos F_1 del grupo B dejamos como reproductores para este grupo sólo el tipo barreado. Se incubaron, en 1946 exclusivamente huevos azules, verdes y oliváceos.

El resultado de los fenotipos era tan heterogéneo como en el año anterior; pero la frecuencia de pollas que ponían huevos típicos araucanos era sobre todo entre los negros del grupo A ya casi un 48%. En cambio entre el grupo B barreados la mayoría ponían huevos café, o rojizos, y sólo 3 de 50 (o sea aproximadamente el 6%) ponían huevos azules en 1947.

Seguimos este mismo procedimiento renovando y seleccionando cada año los gallos de acuerdo con esta misma característica fenotípica mencionada y dejando exclusivamente las po-

llas que ponían huevos de color azul, verde u oliváceo. En esta forma se lograron de 1947 a 1951 3 grupos. A—Araucanos Negros; B—Araucanos Castellanas (barrcados) y C—Araucanos negros de cuello pelado. En el grupo A en 1950 todas las pollas pusieron huevos verdes y azules; la dominancia en negro se manifestó en forma clara en un 100%; pero aparecieron de éstos con carácter de reversibilidad (después de 4 generaciones), pollitos amarillos con una estría café oscuro en la cabeza y en el dorso y alitas que emplumaron primero de tipo barreado (iguales a los que reproduce **Vosburgh** ⁽¹⁾ en sus hermosas fotografías en colores (lámina II) y que después como adultos reprodujeron pollas amarillas jaspeadas de tipo perdiz y gallos con un hermoso plumaje cuyos colores están dispuestos en la misma forma como en el Gallus Bankiva o tipo italiano perdiz, es decir, cuello amarillo y café rojo en el dorso y las alas con estrías azul metálico sobre negro y plumas caudales con brillo metálico en azul y verde, pero de tarso azulejo.

Esta reaparición después de 4 generaciones de negros absolutos es interesante por su carácter recesivo. Con estos ejemplares recesivos estamos formando el 4º Grupo (D).

En el grupo B (Araucano-Castellanas) barreadas, las pollas nacidas en 1952 están poniendo actualmente ya un 50% de huevos de color verde, azul u oliváceo de diferente intensidad y tonalidades. Nuestras observaciones se han efectuado sobre 300 a 350 pollos cada año y comprenden hasta la fecha alrededor de 2,600 aves.

Con respecto al color de la cáscara del huevo existe un factor eminentemente genético típico para cada raza por el pigmento que se almacena en la cáscara calcárea; pero también influyen en la intensidad y tonalidad del color algunos factores de otra índole. Ya el Prof. **Ramón J. Crespo** ⁽²⁾, pág. 64) dice: "El hecho fehaciente de que al traer a España gallinas de razas cuyos huevos son de color oscuro (Barnevelder, Plymouth, Braham, Rhode) se nota que a los pocos meses de vivir bajo nuestro clima se va debilitando la coloración, es un punto de apoyo para sostener la hipótesis de que la naturaleza del terreno, el clima y la alimentación, lo que se llama medio ambiente, modifica la tonalidad de la cáscara. La primera generación obtenida en Castilla de un magnífico lote de reproductores "Barnevelder", importandos de Holanda, cuyos huevos eran obscurísimos, produjo huevos infinitamente más claros, de color crema. Gallinas de "Rhode Island", bisnietas de reproductoras nacidas en Norteamérica, están poniendo huevos mucho mayores que las primitivas, y de color casi blanco. Gallinas araucanas, traídas por el vapor León XIII, en Agosto de 1924, que llamaban la atención por sus huevos color azulado, hicieron la muda en El Pardo y al reanudar la puesta pudo verse que habían perdido aquel vivo color, dando huevos de un débil tono azul, que, apreciado a plena luz, apenas se distinguía, notándose mucho más si se veía estando en la sombra".

Hays, F. A. y Spear, E. W. 1951 ⁽³⁾, pág. 340) en sus interesantes estudios acerca de la variación de la tonalidad del color de las cáscaras de los huevos de los Rhode Island Red, en la

Universidad de Massachussets, ha obtenido por cuidadosa selección 8 diferentes variedades raciales de estas gallinas con tonalidades de color del huevo (desde el casi blanco, hasta el café oscuro), y han podido demostrar que los factores responsables del aumento o disminución en el color de la cáscara, dependen de la duración del cambio anual del plumaje y el número de días de postura. La gran producción de huevos induce al agotamiento del pigmento colorante y que la eliminación de éste, se puede controlar por herencia. Con estos trabajos de **Hays**, y sus discípulos, se explican la variabilidad de la intensidad de color que también nosotros hemos podido observar en nuestras Gallinas Araucanas. Así por ejemplo, la pigmentación azuleja o verdosa es más intensa en la primavera y en algunas buenas ponedoras la intensidad de la coloración va disminuyendo paulatinamente. Pero hemos podido observar también algunos hechos interesantes. Entre los negros de cuello pelado de buena postura a medida que la gallina envejece después del 3er. año, el hermoso e intenso color azul o verdoso se va perdiendo paulatinamente.

Con esta comunicación preliminar acerca de la Gallina Araucana, en los cuales hemos podido fijar ya algunos caracteres en forma homocigótica por el "inbreeding" realizado durante 8 años, nos permite ahora abordar el problema en nuestras próximas comunicaciones, sobre una sólida base genética. También el Dr. **Guillermo Beddings**, nuestro Jefe de Trabajos, está realizando el cruzamiento de la Gallina "Trintre" entre sí, para estudiar la herencia de este carácter, como asimismo el de las "Colloncas" para establecer si existe, en estos últimos, un factor letal. Estimo oportuno que ante la frecuencia de los caracteres citados que se presentan en nuestras gallinas chilenas, de imitar a los norteamericanos en la fundación de un Club, para el estudio de nuestras aves domésticas autóctonas, y organizar, también en nuestro país, donde por razones de origen corresponde la crianza de la Gallina Araucana y su control genético.

RESUMEN

Se establece el origen del nombre de la "Gallina Araucana" y se discuten las características fenotípicas de esta variedad racial originaria de Chile que pone huevos de cáscara de color azul, verdoso u olivácea.

Cita las observaciones realizadas en Estados Unidos de Norte América, Inglaterra y España y refiere las experiencias realizadas en nuestro país.

Las observaciones personales iniciadas en 1944 han permitido, hasta la presente fecha en base al "inbreeding" y selección de las gallinas que ponían huevos con la cáscara de los típicos colores azules o verdosos, fijar en gallinas negras después de 8 generaciones (Araucanas Negras) en forma homocigótica el carácter de la pigmentación del huevo en color azul verdoso en un 100%. Se describen y aíslan los fenotipos dominantes y recesivos y se controlan actualmente en 4 grupos fenotípicos dife-

rentes, la herencia de los caracteres de los descendientes exclusivamente de huevos con cáscara azul verdoso u olivácea. En el tipo barredado se ha logrado después de ocho generaciones de "inbreeding" y selección, un aumento progresivo del porcentaje de las pollas que ponen estos huevos característicos azules, verdosos u oliváceos a un 50% en el tipo Araucana-Castellana en 1953.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Ursprungsbezeichnung des araukanischen Huhnes ("Gallina Araucana") wird festgestellt und die phaenotypischen Merkmale dieser, aus Chile ursprünglichen Rassenabart, welche Eier mit blauer, grünlicher und olivenfarbener Schale legt, erörtert.

Es werden, die in U. S. A., England und Spanien gemachten Beobachtungen erwähnt und über die diesbezüglichen Untersuchungen in Chile berichtet.

Die im Jahre 1944 begonnenen persönlichen Beobachtungen, auf Grund der Inzucht und Zuchtwahl derjenigen Hühner die Eier mit typisch blau oder grünlich gefärbten Schalen legen, haben bei den schwarzen Hühnern (Araucanas Negras) in homozygotischer Form den Charakter der Pigmentierung der blaugrünlischen Eierschalen nach 8 Generationen in 100%, bestimmt. Es werden die dominanten und rezessiven Phaenotypen beschrieben welche isoliert, gegenwärtig in 4 verschiedenen Phaenotypengruppen auf die Vererbung der Charaktere ausschliesslich bei der Nachkommenschaft der blaugrünlischen oder olivenfarbenen Eierschalen, kontrolliert werden. In der Gruppe mit quergestreifter Federung, (ähnlich den Plymouth Rocks - Araucanas Castellanas) ist nach 8 Generationen der Inzucht und Zuchtwahl eine fortschreitende prozentuale Zunahme der charakteristischen blauen, grünlichen und olivenfarbenen Eier erreicht, die im Jahre 1953 bis auf 50% der letzten Generation, gestiegen ist.

SUMMARY

The original name of "Gallina Araucana" is established and the feno typical characteristics of this variety, original of Chile that lays eggs with blue, green or olive coloured egg shells are discussed.

It summons the observations made in the United States of America, England and Spain, and refers to the experiments done in this country.

Personal experience since 1944 has permitted up to the present date, based in inbreeding and selection of hens that lay eggs with blue or green egg shells, to find on the black hens (Araucana Negra) as a homozigotic character that of the pigmentation of the blue and green coloured egg shells, up to a 100%. The dominant and recessive type are described and isolated and are at present controled under four diferent feno-

typical groups, the inheritance of the character of the descent exclusively of eggs with blue, green or olive egg shells. After eight generations of inbreeding and selection it has been possible to obtain an increase in the percentage of chickens of the "Barreado" type (similar to the Plymouth Rock) that lay these characteristic blue, green or olive coloured egg shells to 50% in the "Araucana-Castellana" type in 1953.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—CASTELLO, SALVADOR.—"Actas del Segundo Congreso Mundial de Aves", Barcelona 1924.
- 2.—CRESPO, RAMON J.—Gallinas y Gallineros (4 tomos). Espasa Calpe, S. A. Madrid 1941. Tomo II, págs. 64 y 65.
- 3.—HAYS, F. A. and SPEAR, E. W.—Variations in Shade of Shell Color in Rhode Island Red Eggs. (Contribution Nº 772 from Massachusetts Agricultural Experiment Station) Poultry Science: Vol. XXX, Nº 3, May 1951, pág. 340.
- 4.—JULL, M. A.—"The Races of Domestic Fowl" in The National Geographic Magazine, Washington D. C., April 1927.
- 5.—PUNNET, R. C.—"Featheres World" (England 28 Agosto 1931).
- 6.—PUNNET, R. C.—Journal of Genetics. Cambridge University Press. Vol. 27, Nº 3, 1933.
- 7.—VOSBURGH, FREDERICK G.—Easter Egg Chickens in The National Geographic Magazine, Washington D. C. Vol. XCIV, Nº 3, págs. 377 a 387, Sept. 1948.
- 8.—LATCHAM, RICARDO E.—"Los animales domésticos de la América precolombiana". Publicaciones del Museo de Etnología y Antropología, Santiago. Tomo III, 1924. Págs. 1 a 199 (177).
- 9.—HAENKE, TADEO (ESPINOZA Y BAUZA).—"Viaje por el Virreinato del Río de La Plata" (1795). 1943, pág. 69.
- 10.—LOTSY, J. P. and KUIPER, K.—A preliminary statement of the results of Mr. Mouwink's experiments concerning the origin of some domestic animals. Genetica, Vol. 5, 1925, Nº 1, p. 1-50; Vol. 5, 1923, Nº 2, pp. 140-176; Vol. 5, 1923, Nº 2-4, pp. 357-375; Vol. 6, 1924, Nº 2-3, pp. 221-277.

Algunas observaciones sobre el crecimiento de *Pinus radiata* Don. en Mininco

(Con 2 tablas, 4 figuras y una foto)

por

G. H. Schwabe

Entre las especies aprovechadas para la reforestación de terrenos debilitados por actividades agrícolas desempeña el rol más importante, actualmente y en toda la región, el "pino insignis" (*Pinus radiata* Don.). Las razones para tal preferencia son:

- a) su crecimiento rápido y su gran rendimiento;
- b) sus exigencias muy moderadas con respecto al clima y al suelo.

Estas características de *Pinus radiata*, su distribución en una gran parte del país y la frecuencia relativa de ciertas irregularidades en su desarrollo, aparentemente causadas por factores locales (pág. 136) hacen suponer que la especie en discusión permita analizar ventajosamente las peculiaridades de la productividad vegetal de la región.

Persiguiendo este fin se observó desde Marzo de 1951 en adelante el crecimiento de 268 ejemplares que forman un conjunto dentro de una plantación corriente en Mininco. Los 268 ejemplares, plantados en Agosto de 1950 a una distancia de 2 metros en orden cuadrangular (esquema corriente de la mayoría de las plantaciones existentes), se encuentran en un terreno bastante pobre de "tierra colorada" con un declive de más o menos 12° hacia noreste. El rendimiento del lugar no se destaca de sus alrededores.

Las tablas 1 y 2 y las figuras 1 a 3 ilustran los resultados globales de las mediciones de altura. El hecho más llamativo que se manifiesta por medio de estos datos es la continuidad del crecimiento global, sin periodicidad estacional marcada, lo que explica en parte el gran rendimiento de la especie. La inclinación de las curvas de crecimiento hacia el término medio de las plantas de crecimiento normal (figura 3) que se nota en la última medición, se debe a la formación del ambiente propio de

fecha de medición	M, mm	ampl., mm	σ	v	mm/d
15. 3.1951	288	100 - 630	101.3	35.2	—
23.10.1951	503	100 - 1.050	147.9	29.4	0.97
21. 4.1952	712	170 - 1.410	226.0	30.9	1.16
2.12.1952	1.146	340 - 2.010	320.3	28.0	1.92
24. 2.1953	1.296	470 - 2.590	394.0	30.4	1.78
2. 6.1953	1.369	530 - 2.610	404.8	29.6	0.75

TABLA 1.—Datos estadísticos del crecimiento de *Pinus radiata* en Mininco entre el 15.3.1951 y el 2.6.1953. $n = 268$; $M =$ término medio de la altura en mm; $ampl. =$ amplitud de los valores medidos; $\sigma =$ variación standard; $v = 100 \sigma / M$; $mm/d =$ aumento medio de la altura en mm. por día.

Fecha de medición	n. pl.: tipo:	200 normales	25 óptimas	25 atrasadas	18 afectadas
15. 3.1951	M:	289	420	167	266
	mm/d:	130 - 520	290 - 630	100 - 320	100 - 400
23.10.1951	M:	544	755	277	451
	ampl.: mm/d:	250 - 920 1.15	490 - 1.050 1.50	150 - 470 0.49	100 - 700 0.83
21. 4.1952	M:	716	1.069	400	612
	ampl.: mm/d:	410 - 1.200 0.96	770 - 1.410 1.74	260 - 590 0.68	170 - 910 0.89
2.12.1952	M:	1.156	1.742	682	919
	ampl.: mm/d:	690 - 1.650 1.95	1.500 - 2.010 2.98	420 - 830 1.01	340 - 1.140 1.36
24. 2.1953	M:	1.306	2.031	705	977
	ampl.: mm/d:	860 - 1.830 1.78	1.850 - 2.590 3.44	500 - 930 0.92	470 - 1.600 0.69
2. 6.1953	M:	1.408	2.166	799	1.062
	ampl.: mm/d:	910 - 2.060 1.10	1.930 - 2.610 1.37	630 - 980 0.96	530 - 1.830 0.87
	mm/d:	1.38	2.16	0.78	0.99

TABLA 2.—Los tipos de crecimiento de los mismos pinos. $ampl =$ amplitud de las alturas. Las demás explicaciones véase en tabla 1.

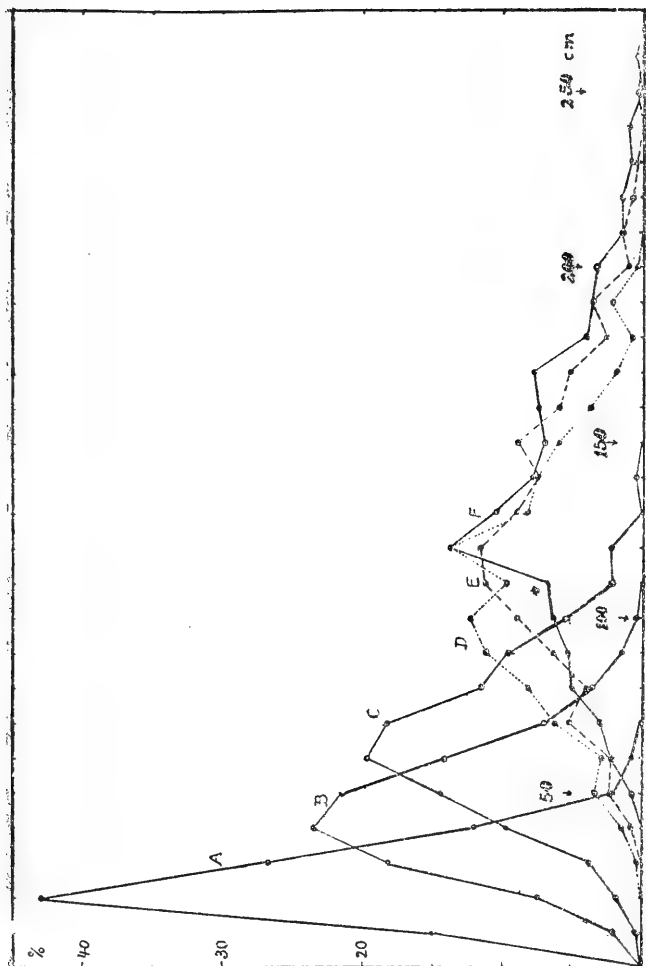


FIG. 1.—Gráfico de las clases de altura de las mediciones expuestas en tabla 1.

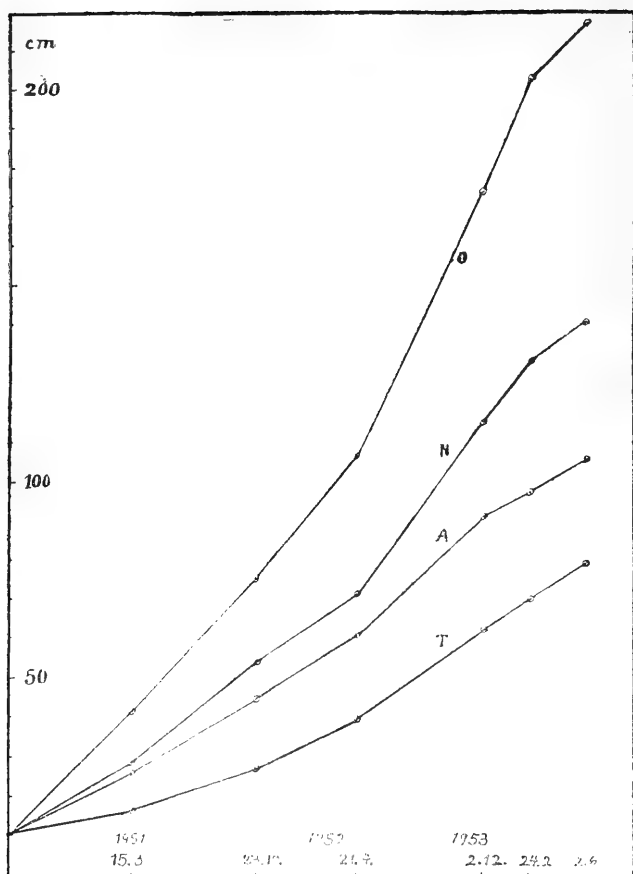


FIG. 2.—Gráfico de ritmo de crecimiento.

O = 25 plantas óptimas

N = 200 plantas normales

A = 18 plantas transitoriamente afectadas por reseca de la flecha

T = 25 plantas atrasadas en su desarrollo.

la plantación y, sobre todo, a su microclima particular. La superficie asimiladora y los conos vegetativos de las plantas mayores se han alejado tanto del suelo, que no gozan más de su reserva

de calor, mientras que las plantas de menor desarrollo están favorecidas por cierta protección contra el viento y las condiciones resultantes de temperatura y humedad atmosférica. Para ilustrar las diferencias microclimáticas dentro y fuera de una plantación de pinos de la misma edad se adjunta unos ejemplos de nuestra serie de mediciones correspondiente (figura 4). En la creación del microclima en lugares protegidos contra la influencia del viento desempeña un rol especial la discordancia climática, que caracteriza al país. Con la formación del microclima propio en la plantación se observa entonces una tendencia hacia la nivelación de las alturas, lo que se expresa probablemente en la discontinuidad, marcada por una estrella, en la curva F' de la fig. 1.

Entre el 15. 3. 1951 y el 2. 6. 1953 se nota un aumento medio de la altura de 1.38 mm. por día en los 200 árboles normales y de 2.16 mm. por día en los óptimos del lugar, el cual no ofrece condiciones óptimas de desarrollo. Dichos valores notables sólo se refieren al conjunto de individuos en investigación, es decir, a un grupo de ejemplares que ejercen una influencia mutua tanto por competencia, como por la formación del microclima propio.

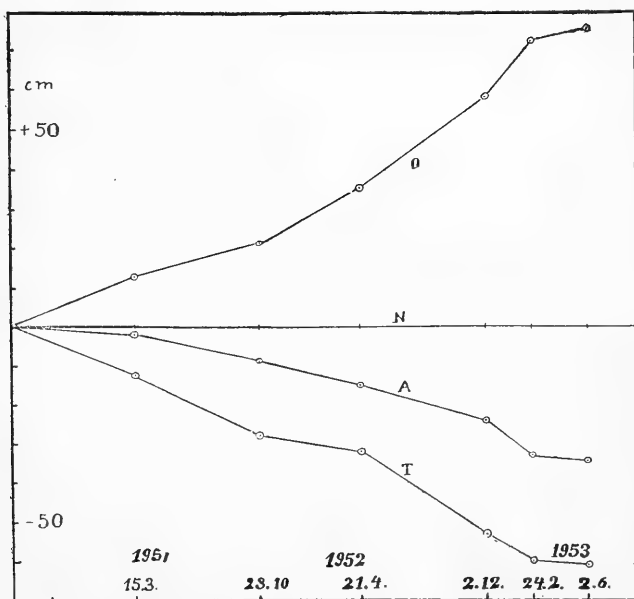


FIG. 3.—Gráfico del ritmo de crecimiento expuesto en proporción al crecimiento de las 200 plantas normales (N = 0).

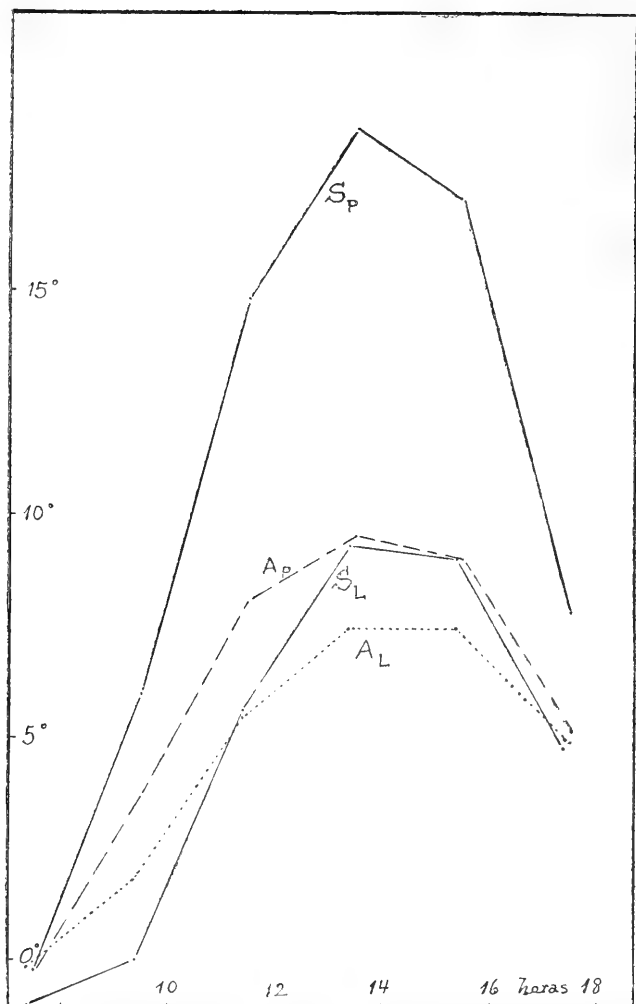


FIG. 4.—Las temperaturas del aire (A) a 1 metro sobre el suelo y del suelo (S) frente a la Estación Experimental de Ecología (L) y de un claro dentro de la plantación adyacente de pinos de cinco años. Las relaciones son bien comparables con el lugar vecino donde se efectuaron las mediciones de altura. Se nota claramente la influencia de la plantación en el microclima local. Fecha: 19.7.1953.

El ritmo de crecimiento de un pino individual que forma parte del conjunto demuestra apreciables variaciones periódicas y permanentes, las cuales serán objeto de otro estudio a base del material recolectado.

Los factores que permiten al pino insignis tal productividad en un terreno relativamente pobre deben residir primordialmente en la correspondencia existente entre las exigencias de la especie y el clima local, el que no se distingue mayormente de las condiciones reinantes en toda la zona colindante. Resulta entonces que las temperaturas y la radiación solar de invierno permiten al pino la producción continua y —en relación a la producción global— tampoco las sequías fuertes de verano interrumpen el proceso de crecimiento. Además se supone que las temperaturas nocturnas relativamente bajas aportan indirectamente al rendimiento, ahorrando a la planta el consumo de materia orgánica por restricción de la actividad respiratoria y aumentando a la vez la humedad atmosférica.

El pino dispone —a semejanza del eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.)— de la capacidad de precipitar en la punta y en la superficie de sus hojas cantidades considerables de agua atmosférica, sobre todo por “filtración de niebla”. Resumiendo nuestras observaciones se constata lo siguiente: Atravesando en la madrugada con buen tiempo plantaciones de pinos que se encuentran en terrenos faldosos se observa a menudo zonas donde las hojas y el ramaje del pino se encuentran cargadas con agua precipitada en tal cantidad, que a veces hasta el suelo está húmedo. Este fenómeno también se observa de vez en cuando en ejemplares aislados de pinos y de eucaliptos. Los lugares preferidos para tal precipitación corresponden al relieve del terreno. Los lugares de mayor acumulación de agua recolectada por el follaje suelen ser en la Cordillera de la Costa las cumbres de las colinas, frecuentemente cubiertas por capas de niebla, y en el valle longitudinal, los surcos y quebradas por las que ascienden corrientes lentas de aire. Parece ser así que las hojas y sobre todo sus puntas, actúan como substrato de aposición de niebla o —en noches sin niebla— se prestan como base de condensación de agua proveniente de una atmósfera sobrecargada debido a su enfriamiento por radiación o por el ascenso adiabático. Tal rocío nocturno adicional, cuya cantidad aumenta al parecer en cierta proporción a la extensión del ramaje, significa indudablemente ya en plantaciones recientes una moderación notable de la sequía estival, y, por lo tanto, un mejoramiento correspondiente de los individuos afectados. Las observaciones recolectadas se están comprobando actualmente por mediciones microclimáticas.

Considerando que ya plantaciones de sólo 1.4 m. de altura media (table 1 y fig. 1 y 4) presentan un microclima propio, muy distinto a terrenos abiertos adyacentes, las plantaciones más desarrolladas aún deberán independizarse todavía en mayor escala.

En Mininco se constata frecuentemente ya en plantaciones de seis años en adelante y de una extensión de unos centenares de hectáreas la formación nocturna de “lagos de niebla”, que

marcan depresiones del terreno o campos despejados dentro de la superficie reforestada.

Sin embargo, las experiencias prácticas enseñan que el consumo de agua de una plantación dentro de los primeros 4 a 7 años de desarrollo suele ser mayor que el ahorro de dicho factor vital a base de la formación del microclima forestal (protección contra resecaión eólica, acumulación de humedad atmosférica, etc.), hasta tal grado, que pueden resecar transitoriamente vertientes pertenecientes a la hoya parcialmente reforestada. Las relaciones existentes entre consumo y ahorro forestal del agua subterránea son bastante complejas y de mayor interés práctico en regiones afectadas por graves sequías estivales. Se pudo observar que la napa en zonas con plantaciones de mayor edad (15 a 30 años) tiende a ascender notablemente, fenómeno que se manifiesta en el nivel estival de los pozos. De mediciones hechas en pozos de la cercanía de Mininco, pero fuera de zonas con plantaciones de mayor edad, resulta que el nivel presenta fluctuaciones anuales de 8.30 m. entre los meses de Abril y Julio de 1953.

Al rendimiento extraordinario de *Pinus radiata*, favorecido por las condiciones climáticas regionales, corresponden necesariamente las demás exigencias de la especie. Sin duda, es en primer lugar la deficiencia de agua durante el verano que afecta y restringe la producción del pino y provoca una serie de signos muy variados de necrosis apical y resecaión, culminando en la conocida mortandad de pinos. Ensayos de abonadura con elementos seleccionados a base de los signos más frecuentes en las plantas afectadas no condujeron a resultados satisfactorios. Se aplicó sulfato de potasio, bórax, ácido bórico, sales de cobre y sulfato de zinc. De los resultados no significativos merecen cierta atención las observaciones siguientes: La aplicación de sulfato de potasio aumenta la clorosis amarilla parcial de las hojas en la parte inferior de la planta, posiblemente debido al antagonismo con el magnesio, deficiente en los suelos locales. Bórax tiende a mejorar el crecimiento estival y zinc el de invierno. Con sales de cobre, aplicadas por inyección seca en el tallo y por incorporación al suelo, se observa cierta recuperación del ápice afectado por necrosis, lo que corresponde completamente a las acciones conocidas del cobre en la economía vegetal del agua. Se desprende de todos los ensayos de abonadura con los minerales indicados que no incluyen el factor principal, cuya deficiencia limita la producción de muchas plantas de la zona comprendida entre Chillán al norte y Victoria al sur.

Resumiendo nuestras observaciones a disposición y excluyendo faltas en la técnica de la plantación, se desprende el cuadro siguiente, bastante uniforme, de las afecciones más graves y frecuentes de la productividad regional de *Pinus radiata*, una vez radicado en el suelo, o sea, de más de 2 años de edad:

1.—Las manifestaciones típicas en la planta individual residen en:

- a) Una clorosis parcial o total del follaje, sobre todo a fines de verano. Los signos de la clorosis son de carácter local y bastante variados.

- b) El crecimiento excesivo del ápice, preferencialmente a fines de invierno y principios de verano, combinado con una ramificación reducida o suprimida en la región del ápice. El ramaje suele ser bastante tupido en la parte inferior del tronco.
 - c) La necrosis parcial o total del ápice.
 - d) La resecación del ápice y de las hojas y ramitas superiores.
 - e) El desarrollo tupido y extenso de las raíces horizontales, ricamente ramificadas a poca profundidad (10 a 30 cm.) contrasta con el desenvolvimiento insuficiente de las raíces más profundas. En terrenos arcillosos las ramificaciones laterales de las raíces principales alcanzan mayores profundidades, pero casi siempre se observan reducciones fuertes y bruscas de su diámetro a poca profundidad.
 - f) La necrosis y pudrición de las raíces más profundas se observan generalmente sólo en suelos arcillosos de textura densa.
- 2.—El fenómeno afecta prevalecentemente grupos mayores de plantas individuales dentro de un conjunto sano.
 - 3.—En las plantas afectadas se manifiesta con mayor frecuencia el pulgón del pino (*Pineus bórneri* Annand).
 - 4.—El período más crítico para la manifestación de las afecciones en discusión es del tercer al séptimo año después de la plantación, o sea, se restringe a plantaciones de 1 a 4 metros de altura más o menos y que todavía no cubren el suelo por completo.
 - 5.—Los lugares en los cuales se manifiesta la afección prácticamente no disponen nunca de una capa completa de vegetación y que ocupa durante el verano a menudo sólo manchas aisladas y caracterizadas por especies xeromorfas.
 - 6.—En la cercanía inmediata de canales y arroyos permanentes que atraviesan una plantación afectada, siempre se encuentran grupos de pinos de desarrollo normal.
 - 7.—Los perjuicios en discusión se agravan en lugares donde existen estancamientos de agua durante el invierno. En estos puntos se notan sobre todo graves afecciones de las raíces profundas.

No obstante la necesidad de investigar más en detalle el problema y de confirmar fisiológicamente el proceso de dicha afección y mortandad de pinos, bastante frecuente en la región, las experiencias recolectadas al respecto ya permiten explicar el mecanismo general. En períodos de un abastecimiento equilibrado de agua, el pino demuestra temporalmente su rendimiento grande y típico. Durante la sequía estival el agua desempeña el rol del factor mínimo. En sus primeros años, el consumo de agua de la planta es relativamente pequeño y además el rocío nocturno cubre en parte sus exigencias. Debido al aumento de la superficie asimiladora y transpiradora, el consumo de agua aumenta fuertemente de año en año. Cuando la planta estimulada por las condiciones de luz y temperatura

desarrolla su mayor actividad, interviene a principios de verano, reforzado por los vientos secos del sur, la sequía que ataca preferentemente los tejidos meristemáticos del ápice y de los brotes con sus valores osmóticos notablemente menores. A los trastornos fisiológicos consiguientes que se desconocen todavía en detalle, se deben probablemente las deformaciones y anomalías tan frecuentes del sector apical de muchas plantas entre 2 y 8 años (supresión de ramificación, prolongaciones extraordinarias y diámetros excesivos de los brotes apicales, etc.). Justamente en esta época del año se observa a veces movimientos y doblamientos reversibles del ápice, dirigidos en contra de la dirección del viento local diurno, cuya génesis no se conoce todavía en detalle. El desequilibrio fisiológico, causado por la intervención de la sequía, se manifiesta en casos de mayor gravedad por medio de disminuciones apreciables de la turgescencia de los tejidos juveniles. Los daños visibles en la región del cono vegetativo que caracterizan la situación crítica de la planta son múltiples. En plantas de pocos años de edad se nota frecuentemente la formación de hojas morfológicamente anormales por su mayor ancho y su longitud disminuída. En suelos muy permeables (arenas) y de napa profunda, basta el desequilibrio creciente entre la existencia de agua disponible para el árbol y las exigencias de éste, para provocar la derrota final. En suelos arcillosos de poca permeabilidad puede agravarse la situación de tal manera que grupos de árboles de un desarrollo aparentemente normal y bueno se caen súbitamente, debido a una afección adicional de las raíces profundas. Dichos suelos se empapan de agua casi inmóvil que inhibe completamente la aeración de las raíces profundas y provoca finalmente la necrosis ascendente. Un árbol afectado por estas circunstancias está privado de su acceso a las capas más profundas y es naturalmente mucho más susceptible a las acciones de las sequías siguientes y puede sufrir un repentino colapso en el desarrollo.

En el momento cuando los árboles individuales han alcanzado las extensiones suficientes para cubrir en conjunto más de la mitad del terreno, protegiéndolo contra la agresión de los vientos y creando el microclima específico del bosque juvenil, el peligro de los derrumbamientos está sobrepasado. Para disminuir en la práctica eficazmente este peligro, son recomendables todas las medidas aptas para conservar la humedad del suelo (labranza, vegetación protectora, disminución de la distancia de plantación, interplantación de otras especies, etc.). Con respecto a los detalles se necesita investigaciones particulares de los lugares más afectados, pues se trata de fenómenos de carácter netamente regional.

Se subentiende que el árbol debilitado, sobre todo durante el período crítico entre 4 y 7 años (si no se cierra antes la plantación), está expuesto en escala mayor a toda clase de afecciones secundarias, entre las cuales desempeña un papel especial por su gran frecuencia el pulgón del pino (*Pineus Börneri* Annand, *Homéoptera*, *Adelgidae*). Suponemos que dicho parásito muy común, raras veces puede causar daños de consideración en árboles no debilitados previamente por condiciones eco-

lógicas desfavorables del tipo recién descrito. En realidad se constata que la incidencia de *Pinus Börneri* aumenta considerablemente en cuarteles debilitados, comparándolos con grupos de árboles que disponen de una economía más equilibrada del agua. A nuestro juicio el pulgón del pino debe considerarse más como un signo de desperfectos que como un factor destructivo en sí¹).

El aspecto de pinos que sufren de una derrota temporal de su balance de agua se caracteriza desde lejos por la resecaión de sus ápices. Fundamentalmente el mismo fenómeno se observa frecuentemente en muchas otras especies, sobre todo en cipreses (*Cupressus macrocarpa* Hartw.), álamos (*Populus* sp.), árboles frutales y eucaliptus (*Eucalyptus globulus* Labill.), pero nunca en sauces y en la vid.

Se supone que en tales afecciones actúen circunstancias correspondientes a las arriba descritas. En alamedas más extensas, la línea formada por las puntas de los árboles es a veces claramente ondulada, lo que se debe probablemente a diferencias en la estructura del suelo. Es notable que en los bajos de tales líneas onduladas, sobre todo en terrenos arenosos, la resecaión de las ramas apicales es más frecuente y a fines del período estival la clorofila de las hojas se descompone con anterioridad. Todavía no existen estudios edafológicos respectivos.

Muy frecuente son fenómenos parecidos, o sea, la resecaión de la parte superior en plantas anuales, causadas por la sequía estival. Particularmente susceptibles parecen ser las crucíferas cultivadas. La aparición repentina de la sequía origina aparentemente una mayor serie de anomalías morfológicas y trastornos fisiológicos que merecen la atención.

Los factores decisivos para el crecimiento armónico y óptimo del pino y de otras especies leñosas residen generalmente en nuestra región en el balance equilibrado del agua. Los árboles de mejor desarrollo suelen encontrarse en los lugares correspondientes, mientras que terrenos afectados por la erosión y con declive hacia el norte y, por lo tanto, expuestos a la insolación más intensa como a las lluvias más fuertes, sufren atrasos en su desarrollo y son más susceptibles a afecciones de distinta índole.

RESUMEN

A base de 6 series de mediciones de altura efectuadas en 268 ejemplares de *Pinus radiata* entre 1951 y 1953 se analiza el ritmo de crecimiento de esta especie forestal en los terrenos de Mininco, caracterizando los factores más importantes que

¹) Tocando el tema de los parásitos del pino hay que mencionar "la cuncuna del pino" *Cathocephala (Dirphia) amphimone* (Berg.). Esta larva, voraz y muy frecuente durante la primavera, prácticamente es de poca importancia, pues completa en el curso del verano sólo un ciclo de desarrollo. Ecológicamente merece interés su preferencia por ciertos lugares que se destacan aparentemente no sólo por su carácter microclimático favorable, sino también por una mayor fertilidad edáfica.

influyen en su productividad. En especial, se trata la economía del agua y su rol en el desarrollo de afecciones graves y frecuentes que sufre la especie debido al clima regional. Las investigaciones respectivas se continúan.

ZUSAMMENFASSUNG

Anhand von 6 Messungen, die zwischen 1951 und 1953 an 268 Exemplaren von *Pinus radiata* in Mininco durchgeführt wurden, wird die Produktivität dieser forstlich wichtigen Art im Hinblick auf die wirksamsten ökologischen Faktoren gekennzeichnet. Anschliessend werden einige Wirkungen des aus klimatischen Gründen ungewöhnlichen Wasserhaushaltes auf die Entwicklung dieses Baumes beschrieben und eine regional verbreitete Form der Wipfeldürre behandelt. Die hier behandelten Untersuchungen werden weitergeführt.

SUMMARY

On the basis of 6 series of height measurements made of 268 specimens of *Pinus radiata* between 1951 and 1953, the rhythm of growth and the most important factors influencing its productivity have been analyzed, with particular emphasis on the role of water with regard to the appearance of serious "diseases" caused in the species by the regional climate. These studies are being pursued.

Ensayos de abonadura con elementos menores

(Con 14 tablas)

por

G. H. Schwabe

Con el fin de comprobar hasta que grado influyen ciertas carencias minerales en la productividad vegetal de los terrenos agrícolas del valle longitudinal se efectuaron varias series de ensayos de abonadura en distintos distritos del país. Por razones prácticas se adoptó el número y la extensión de las parcelas y la selección de las plantas de experimentación a las posibilidades al alcance de los colaboradores agrícolas. En total se encaminó en los años 1950 a 1952 más de 60 ensayos con 12 a 128 parcelas cada uno. Debido a desperfectos técnicos, perjuicios causados por animales o intervenciones posteriores y a otros inconvenientes durante el período de la vegetación o en la cosecha, se pudo analizar solamente unos 30 ensayos, de los cuales una gran parte carece de resultados significativos, debido a las variaciones demasiado grandes de los rendimientos particulares.

Para el análisis estadístico de las cosechas se aplica el método de diferencia, comparando cada parcela de 4 a 30 m² con las vecinas de testigos, para obtener los valores siguientes:

$$m_D = \sqrt{\frac{\sum D^2 - M_o \cdot \sum D}{n(n-1)}} \quad t = \frac{M_o}{m_o}$$

D = diferencia individual,
M^o = diferencia media y
n = número de parcelas o muestras

y p en porcientos según t y los grados de libertad de las tablas correspondientes. Los valores de la p inferiores a 5% indican resultados significativos. Las tablas adjuntas ilustran algunos de los resultados cuantitativos hasta la fecha obtenidos.

a) **Abonaduras con minerales de cobre.**—A base de los signos de deficiencias minerales observados en distintas plantas de cultivo, supusimos desde hace dos años que cierta carencia de cobre es relativamente frecuente en los terrenos agrícolas al sur

del río Bío-Bío, no obstante la aplicación preferente de materiales de cobre para fines de la desinfección de semillas agrícolas. Sin contar una serie de resultados positivos, pero no significativos al respecto se comprobó la acción fertilizante del cobre mediante ensayos de campo con sulfato de cobre puro en los siguientes terrenos:

Fundo "Mininco" en maravilla, tabla 1; Fundo "Nebraska" (Gorbea) en trigo, tabla 2 y con otros materiales de cobre en Fundo "Mininco" en trigo, tablas 3 a 7.

	testigo	CuSO ₄	
número de parcelas	3	3	
núm. tot. de plantas	62	64	
altura media, cm.	98.5	98.9	no significativo
diámetro medio de la inflorescencia, cm.	10.0	9.7	" "
g semilla/parcela	287.7	377.3	
	D		+ 89.6 = 31.3%
	m _D		29.2
	t		3.0
	p		4.0%
g semilla/planta	14.2	17.5	
	D		+ 3.3 = 23.3%
	m _D		2.04
	t		1.6
	p		17%
g 1.000 semillas ¹⁾	60.8	61.5	no significativo

TABLA 1.—Ensayo de abonadura con sulfato de cobre (5 g/parcela = 1 g/m²) en maravilla variedad Saratov en el Fundo "Mininco". Los demás datos véase tabla 11.

En el Fundo "Casas de Oregón" (tabla 8 a) se observó efectos negativos a causa de una dosificación excesiva con sulfato de cobre, mientras que la aplicación de la misma cantidad (5.0 g CuSO₄/m²) en el Fundo "Nebraska" no influyó de manera significativa en la cosecha de trigo de 1953. En la Hacienda "Freire" la aplicación de 5.0 g de sulfato de cobre + 0.5 g. de sulfato de manganeso causó una baja significativa del rendimiento de trigo en un ensayo de 1952/53 (tabla 8 b). Con 1.0 g sulfato de manganeso y 5.0 g sulfato de cobre no se obtuvo variaciones significativas.

Por lo general la acción favorable del cobre se nota más en el peso mayor del grano que en aumentos cuantitativos del ren-

¹⁾ "g 1.000 semillas" y "g 1.000 gr." significa el peso en gramos de un mil semillas (granos).

	testigo	MgSO ₄	
núm. de parcelas	4	4	
g gr/m ²	175	152	no significativo
g 1.000 granos	38.15	39.30	
D			+1.15 = 3.3%
m _D			0.13
t			8.8
p			0.1%

	testigo	CuSO ₄	
núm. de parcelas	5	5	
g gr/m ²	164	164	
g 1.000 granos	38.18	38.97	
D			+0.78 = 4.9%
m _D			0.13
t			6.0
p			0.1%

	testigo	MnSO ₄	
núm. de parcelas	5	5	
g gr/m ²	158	155	no significativo
g 1.000 granos	38.48	37.84	
D			-0.63 = 6.1%
m _D			0.145
t			4.4
p			0.22%

TABLA 2.—Ensayo de abonadura con varios elementos menores realizado a trigo variedad Vilmorin en el período de 1952/53 en el Fundo "Nebraska" (Gorbea) bajo la dirección del ing. agr. señor Edwin Ihl. Se aplicaron en los ejemplos expuestos por m² 5 g Mg SO₄, 0.5 g Cu SO₄ y 1.0 g Mn SO₄, respectivamente. Los demás detalles se exponen en el texto. Siembra 12. 10. 1952; cosecha 4. 1. 1953.

En los ensayos expuestos en las tablas 2, 8a, 8b y 9 se aplicaron los elementos menores en soluciones acuosas de menos de 0.5% por regadera al trigo sembrado en los meses Mayo a Julio.

	Concentrado Minas Los Ma- quis (Cabildo)	Escoria de fundición Braden Copper
	%	%
Cu	30.00	1.07
S	29.80	1.40
SiO ₂	4.50	28.15
Al ₂ O ₃		11.59
Fe	28.60	
FeO		54.00
MgO		1.30
CaO	2.30	0.30
Na ₂ O		0.70
K ₂ O		0.35
MnO		Indicios
Pb	0.05	
Zn	0.05	
TiO ₂	4.30	0.40
P ₂ O ₅		Indicios
Se		Indicios
Te		Indicios
As	0.6	Indicios
Sb	Indicios	Indicios
MoO ₃		0.60
Cl	0.01	

TABLA 3.—Datos analíticos de los materiales de cobre aplicados en los ensayos de abonadura. Los análisis correspondientes fueron efectuados por los Laboratorios de Mauricio Hochschild y Cía. en Valparaíso (Los Maquis) y los Laboratorios de la Braden Copper Cía. en Sewell, respectivamente. Mientras el primer material se aplicó en forma de un polvo muy fino, la escoria Braden presenta la siguiente composición granulométrica:

> 2.7 mm.	17.5%
1.4 — 2.7 mm.	23.0%
0.7 — 1.4 mm.	29.0%
0.3 — 0.7 mm.	17.5%
< 0.3 mm.	13.0%

dimiento. Entre los signos de carencia de cobre observados durante los distintos ensayos llamaron la atención la madurez inhomogénea del trigo (brotes basales verdes en la planta casi seca) y la pronunciada preferencia que dedican los conejos silvestres a las plantas juveniles de parcelas tratadas con cobre, sobre todo en cebada, en comparación con los testigos. Sólo en un terreno de rulo en Mininco se constaba cierto aumento del rendimiento por superficie y por planta, debido a la aplicación de una escoria de cobre. Sin duda, el uso de carbonato de cobre para fines de desinfección de semillas significa al mismo tiempo una abonadura de la planta, no obstante las afecciones que el

	escoria	escoria de fundición Braden Copper	
núm. de muestras	6	6	
núm. tot. de plantas	1.007	980	
g. granos total	873	1.068	
	D		+32.5 = 3.7%
	m _D		14.4
	t		2.25
	p		5.3%
g granos/100 plantas	93.3	114.3	no significativo
g 1.000 granos	39.7	41.6	
	D		+1.95 = 4.9%
	m _D		0.64
	t		3.0
	p		1.33%
g % granos < 2.7 mm ¹⁾	1.125	0.395	
	D		-0.73 = 64.9%
	m _D		0.13
	t		5.6
	p		0.1%

TABLA 4.—Ensayo de abonadura con escoria de cobre Braden Copper (105 g/m²) en trigo variedad Vilmorin 29 en rulo; Campo de ensayo I, Fundo "Mininco". La abonadura se efectuó el 9. 6. 1952 y la siembra el día siguiente. La espigadura se observó sin diferencia entre las parcelas del 15. 11. en adelante. Entre el 31. 12. 1952 y el 3. 1. 1953 se cosecharon las muestras de 1 m² c. u. a mano y mediante el marcador, contando de inmediato el número de las plantas.

grano empolvado sufre a veces durante su desarrollo inicial. De los distintos efectos del cobre en el hinchamiento y en la germinación y, en especial, sobre los aumentos del porcentaje de germinación a base del cobre y observados en trigo, Melilotus y otras semillas se tratará en una ocasión posterior.

¹⁾ "g % granos < 2.7 mm." significa el porcentaje de granos que pasan el harnero con 2.7 mm. en gramos.

	testigo	mineral de cobre	
núm. de muestras	3	3	
núm. tot. de plantas	414	559	
g granos total	221	284	no significativo
g granos/100 plantas	55.5	50.7	" "
g 1.000 granos	31.02	39.50	" "
	D		+8.48 = 27.3%
	m _D		1.295
	t		6.5
	p		0.31%
g% granos <2.7 mm.	4.70	0.78	
	D		-3.92 = 83.4%
	m _D		1.46
	t		2.7
	p		5.4%

TABLA 5.—Ensayo de abonadura con mineral de cobre molido de Cabildo (Hochschild) (5.0 g/m²) en trigo variedad Janetzky, potrero Dos Encinas, Fundo "Mininco". Abonadura: 24. 9. 1952, siembra: 26. 9. 1952, cosecha: 30. 1. 1953.

	testigo	mineral de cobre	
núm. de muestras	3	3	
núm. tot. de plantas	569	761	
g granos total	451	557	no significativo
g granos/100 plantas	82.0	70.7	" "
g 1.000 granos	32.3	34.5	" "
	D		+2.23 = 6.9%
	m _D		0.43
	t		5.2
	p		0.66%
g% granos <2.7 mm.	5.27	5.33	no significativo

TABLA 6.—Ensayo de abonadura con 6 g/m² mineral de cobre molido de Cabildo (Hochschild) en trigo variedad Manitoba, potrero Dos Encinas, Fundo "Mininco". Abonadura: 25. 9. 1952, siembra: 27. 9. 1952 y cosecha: 30. 1. 1953.

	testigo	sulf. de potasio + min. de cobre	
núm. de muestras	3	3	
núm. tot. de plantas	728	677	
g granos total	592	662	no significativo
g granos/100 plantas	81.4	83.2	„ „
g 1.000 granos	34.83	37.40	
	D		+2.57 = 7.4%
	m _D		0.32
	t		8.0
	p		0.13%
g% granos <2.7 mm.	1.57	0.93	
	D		-0.64 = 40.8%
	m _D		0.234
	t		2.7
	p		5.4%

TABLA 7.—Ensayo de abonadura con sulfato de potasio comercial (60 g/m²) + mineral molido de cobre de Cabildo (Hochschild) (6 g/m²) en trigo variedad Manitoba, potrero Dos Encinas, Fundo "Mininco". Abonadura: 27. 9. 52, siembra: 28. 9. 52, cosecha: 1. 2. 1953.

	testigo	CuSO ₄	
núm. de parcelas	5	5	
g granos	1.164	1.214	no significativo
g 1.000 granos	50.54	49.03	
	D		-1.51 = 3.0%
	m _D		0.513
	t		2.94
	p		2.0%

TABLA 8a.—Ensayo con 5.0 g sulfato de cobre/m² en trigo variedad Vilmorin en el Fundo "Casas de Oregón" (Victoria) en 1952/53. Mientras la dosis de 1.0 g/m² queda sin efecto significativo en el rendimiento y en el peso del grano, origina el exceso del mismo sal (5.0 g/m²) una apreciable disminución del peso del grano sin afectar, sin embargo, el rendimiento cuantitativo. Abonadura: 29. 10. 1952, cosecha: 15. 2. 1953. Véase nota en tabla 2.

	testigo	CuSO ₄ + MnSO ₄	
núm. de parcelas	4	4	
g granos	1.583	1.383	
D			—200 = 12.6%
m _D			61
t			3.3
p			1.65

TABLA 8b.—Ensayo con 5.0 g de sulfato de cobre y 0.5 g de sulfato de manganeso por metro cuadrado a trigo variedad Vilmorin en la Hacienda "Freire". Abonadura: 7. 10. 1952, cosecha: 25. 1. 1953. Se observa una depresión notable del rendimiento. Dentro del mismo ensayo ni sulfato de cobre (0.5 y 5.0 g/m²) sólo ni sulfato de manganeso (1.0 g/m²) sólo dieron variaciones significativas del rendimiento. Véase nota en tabla 2.

b) **Abonadura con sulfato de magnesio.**—Por abonadura con esta sal se obtuvo resultados positivos y significativos en dos ensayos:

Fundo "Nebraska" en trigo (tabla 2) y

Hacienda "Freire" en trigo (tabla 9).

La deficiencia del magnesio suele afectar tanto el peso del grano como el rendimiento. A base de observaciones subjetivas y considerando una serie de resultados no significativos, debido a desperfectos del ensayo, se estima que la carencia de magnesio abarca terrenos relativamente extensos.

	testigo	MgSO ₄	
núm. de parcelas	4	4	
g granos	1.375	1,720	
D			+345 = 25.1%
m _D			60
t			5.7
p			0.1

TABLA 9.—Ensayo con 5.0 g sulfato de magnesio por m² en trigo variedad Vilmorin en la Hacienda "Freire" en el período 1952/53. Se nota un aumento considerable del rendimiento por la aplicación de este abono, posiblemente influenciado por un exceso en la aplicación de cal. Abonadura: 7. 10. 1952, cosecha: 25. 1. 1953.

c) **Abonadura con sulfato de manganeso.**—Probablemente a causa de antagonismos iónicos, con manganeso se observa tanto resultados negativos (Fundo "Nebraska" en trigo, tabla 2) en 1952/53 como positivos en el mismo terreno en 1951/52 (tabla 10). En este Fundo, situado en la orilla este del río Don-

	testigo	MnSO ₄
núm. de parcelas	6	6
g gr/m ²	306.7	389.7
D		+83.0 = 37.0%
m _D		26.9
t		3.1
p		1.12%

TABLA 10.—Ensayo de abonadura con varios elementos menores a trigo variedad Vilmorin realizado en el año 1951/52 en el Fundo "Nebraska" (Gorbea) bajo la dirección del ing. agr. señor Edwin Ihl. Se aplicaron en la serie expuesta 0.5 a 1.0 g MnSO₄. Detalles en el texto. Siembra: 17. 8. 1951, cosecha: 20. 1. 1952.

guil, cerca de Gorbea, se efectuó en el año 1951 en suelo Trumao el primer ensayo con elementos menores en forma de sales puras disueltas. La abonadura previa consiste en 266 kgs. de fosfato Pelicano por hectárea. Se aplicó en las 54 parcelas las sales siguientes: sulfato de cobre, sulfato de zinc, sulfato de manganeso y sulfato de magnesio en distintas concentraciones y con tres repeticiones por cada una de las series. Resultados significativos se obtuvo sólo con 0.5 y 1.0 g de MnSO₄/m² (tabla 10).

Según los resultados se supone que también ZnSO₄ (1.0 g/m²) y MgSO₄ (5.0 g/m²) fomentan la productividad, pero hasta la fecha no se ha obtenido valores significativos. La repetición de los ensayos durante el período agrícola 1952/53 en el mismo fundo no presenta aumentos o disminuciones significativos del rendimiento, pero sí del peso del grano (tabla 2). Por medio del MnSO₄ (1.0 g/m²) se nota una depresión del peso del grano, o sea, por el mismo elemento que en el ensayo de 1951 aumentó el rendimiento. Es conocido que a veces se presenta una relación entre el fomento de la productividad vegetal, causado por influencias de abonaduras minerales y la disminución simultánea del peso del grano. Se estima que existe cierta deficiencia fisiológica de manganeso en estos terrenos, cuyas reservas minerales no alcanzan para equilibrar el estímulo del manganeso. Además resulta del mismo ensayo que CuSO₄ (0.5 g/m²) y MgSO₄ (5.0 g/m²) causan aumentos significativos del peso del grano.

d) **Abonadura con bórax y ácido bórico.**—Desde el año 1950 observamos en varios fundos de la Provincia de Bío-Bío en la

betarraga azucarera la pudrición del corazón, enfermedad estrechamente relacionada con carencias de boro. Sin embargo, algunos ensayos respectivos de abonadura con bórax y con ácido bórico no dieron resultados positivos y debidamente significativos. Parece probable que en dicha afección participen, por lo menos dentro de esta región, otros factores todavía no determinados. También en plantas aparentemente carentes de boro dicha abonadura no dió resultados satisfactorios. Solamente en la maravilla en Mininco (tabla 11) se notó aumentos significativos

	testigo	bórax		
núm. de parcelas	5	5		
núm. tot. de plantas	102	102		
altura media, cm.	98.6	99.5	no significativo	
diámetro medio de la inflorescencia, cm.	10.1	9.7	"	"
g semilla/parcela	332.8	361.6	"	"
g semilla/planta	16.5	17.7	"	"
g 1.000 semillas	61.2	65.5		
D			+4.3 = 7.0%	
m _D			0.82	
t			5.25	
p			0.1%	

TABLA 11.—Ensayo de abonadura con bórax en maravilla variedad Saratov en el Fundo "Mininco". La parcela mide 5 m² y se abonó el 23. 10. 1952 con 5 g de bórax (1 g/m²) en una abonadura previa general de 60 g fosfato Melón + 12 g sulfato de potasio por m². El ensayo total comprende 68 parcelas en 340 m² y se efectuó con el fin de precisar la acción de una serie de oligoelementos. Siembra: 25. 10. 1952, cosecha: 8. 3. 1953, flor de 15.1. hasta fines de Febrero.

del peso de la semilla y en dos ensayos de los años 1951/52 y 1952/53 efectuados en la Estación Experimental de la Sociedad Nacional de Agricultura en Paine se observó aumentos no significativos del rendimiento. Sería indicado dedicar al boro mayor atención, sobre todo por su importancia en el metabolismo de los tejidos meristemáticos y en relación al ritmo extraordinario de crecimiento que presentan varias plantas de cultivo y malezas en la región.

e) **Abonadura con sulfato de zinc.**—Resultados positivos y significativos por aplicación de sulfato de zinc se constataron hasta la fecha sólo al norte del río Bio-Bío, en el Fundo "Andalién" de la Universidad de Concepción en el rendimiento de frejoles (tabla 12) (y en el peso del grano de la maravilla en la Estación Experimental de la Sociedad Nacional de Agricultura

	testigo	ZnSO ₄	
núm. de parcelas	3	3	
núm. tot. de plantas	94	78	
g semilla/planta	26.34	29.66	
D			+3.32 = 12.6%
m _D			0.86
t			3.9
p			1.75%

TABLA 12.—Ensayo con fréjoles, variedad en el Fundo “Andalién” de la Universidad de Concepción. La parcela mide 4 m² y se abonó el 17. 11. 1952 con 2 g sulfato de zinc (0.5 g/m²). Siembra: 18. 11. 1952, cosecha: 19. 3. 1953.

en Paine (tabla 13), donde se notó en dos años consecutivos también aumentos considerables, pero no significativos del rendimiento. A base de una serie de resultados no significativos se supone que carencias de zinc son relativamente frecuentes, también al sur del río Bío-Bío.

	testigo	ZnSO ₄	
núm. de parcelas	4	4	
g semilla/parcela	3.168	3.959	no significativo
g 1.000 semillas	98.75	103.22	
D			+4.47 = 4.5%
m _D			1.44
t			3.1
p			2.12%

TABLA 13.—Ensayo con sulfato de zinc en maravilla, variedad Klein en el Fundo “La Vega”/Huelquén, Paine, Estación Experimental de la Soc. Nac. de Agricultura. La parcela mide 12 m² y se abonó con 12 g de sulfato de zinc (1.0 g/m²). Siembra: 14. 10. 1952, cosecha: 19. 3. 1953. De control del aumento del peso de la semilla misma debido a la aplicación de sulfato de zinc sirve, además, el hecho que la semilla de las parcelas tratadas con este elemento pesa 3.0 % más en relación a su casco que la semilla de las parcelas testigo (proporción gravimétrica entre la semilla y su casco en material testigo 1.53 y en material abonado 1.65; t = 5.4, p = 0.2%).

NOTA.—Según análisis efectuado durante la impresión de este aporte por el Laboratorio Químico de la Estación Experimental de la Sociedad Nacional de Agricultura en Paine, contiene la semilla de las parcelas de testigo 30.6 % materia grasa y la de las parcelas abonadas con zinc 33.2 % correspondiente a un aumento de 2.6 %.

f) **Abonadura con yoduro de potasio.**—En los campos de la Estación Experimental recién mencionada pudimos constatar en dos años consecutivos aumentos considerables, pero no significativos del rendimiento de la maravilla por abonadura con yoduro de potasio. Un ensayo efectuado en el Fundo “Mininco” (tabla 14) en la misma especie confirma la suposición, que también el yoduro de potasio puede originar aumentos de la productividad vegetal.

	testigo	KI	
núm. de parcelas	5	5	
núm. tot. de plantas	102	90	
altura media, cm.	98.6	105.5	no significativo
diámetro medio de la inflorescencia, cm.	10.1	11.4	” ”
g semilla/parcela	332.8	361.8	” ”
g semilla/planta	16.5	20.3	
D			+3.76 = 22.8%
m _D			0.966
t			3.9
p			0.46%

TABLA 14.—Ensayo de abonadura con yoduro de potasio (2.5 g/parcela = 0.5 g/m²) en maravilla variedad Saratov en el Fundo “Mininco”. Los demás datos véase tabla 11.

Resumiendo las pocas comunicaciones expuestas que representan un extracto preliminar de un material mayor de experiencias con elementos menores y de su acción en la productividad vegetal de la región se destacan los hechos siguientes:

1.—Se comprueba mediante ensayos de campo que varios elementos menores (Cu, Mg, B, Zn, Mn y I) pueden mejorar o aumentar la productividad vegetal de ciertos terrenos agrícolas del valle longitudinal.

2.—Es notable que entre los elementos de acción favorable en la productividad vegetal de la región figuran varios que son de trascendencia especial en la fisiología del animal doméstico: cobre, zinc, magnesio y yodo.

Se estima por lo tanto conveniente dedicar al problema del abastecimiento mineral de la región la atención práctica que le corresponde. En especial, se recomienda un estudio analítico de los suelos cultivados y de sus productos con respecto a su composición mineral.

Finalmente me es un grato deber expresar mis sentimientos de gratitud a todos mis colaboradores en los ensayos de campo, sobre todo a los señores F. Neckelmann en Los Angeles, ing. agr. E. Ihl en Temuco y E. v. Baer, Director de la Estación Experimental de la Sociedad Nacional de Agricultura en Paine. La posibilidad de experimentar con una escoria de fundición de cobre se agradece a la gentileza de la Gerencia de la Braden Copper Company en Rancagua.

RESUMEN

Desde el año 1951 se efectuaron en varios fundos de la zona central y sur de Chile y desde el año 1952 sobre todo en el Fundo "Mininco" una serie de ensayos de abonadura con elementos menores que confirman la influencia cualitativa y cuantitativa de definidas carencias minerales en la producción vegetal. En 14 tablas se exponen los resultados significativos obtenidos mediante tratamientos con cobre, magnesio, manganeso, boro, zinc y yodo. Estos elementos suelen influir con mayor frecuencia en la calidad de las cosechas que en su cantidad. Los ensayos expuestos se efectuaron en trigo, maravilla y fréjoles. Se supone que las carencias constatadas influyen también en la producción ganadera de los terrenos afectados.

En los ensayos expuestos se aplicó fuera de sales puras de los elementos indicados una escoria de fundición de cobre, gentilmente facilitada por la Braden Copper Company de Rancagua.

ZUSAMMENFASSUNG

Seit dem Jahre 1951 in mehreren Gütern des mittleren und südlichen Chile und seit 1952 insbesondere im Fundo "Mininco" durchgeführte Düngungsversuche mit Spurenelementen bestätigen, dass gewisse Mineralmängel die pflanzliche Produktion nicht selten quantitativ und qualitativ beeinträchtigen. Anhand von 14 Tafeln, die signifikante Ergebnisse darstellen, wird gezeigt, dass Kupfer, Magnesium, Mangan, Bor, Zink und Jod als Manglelemente festgestellt werden konnten. Es fällt auf, dass diese Elemente offenbar die Qualität der Ernten (z. B. Korngewicht) stärker als die Ertragsgrösse beeinflussen. Als Versuchspflanzen dienten Weizen, Sonnenblume und Bohnen. Es ist anzunehmen, dass derartige Mängel sich auch auf die Viehwirtschaft der betroffenen Gebiete nachteilig auswirken.

Ausser reinen Salzen der genannten Elemente wurde bei den Versuchen mit gutem Erfolg auch eine Kupferschmelzschlacke, die die Braden Copper Company in Rancagua freundlicherweise zur Verfügung stellte, verwandt.

SUMMARY

In several places of central and southern Chile a number of experiments in fertilization with trace elements have been

carried out since 1951 — and since 1952 mainly at Fundo “Mininco” — which conform the qualitative and quantitative influence of certain mineral deficiencies in the vegetable productivity of soils. The 14 tables show the significant results obtained by means of soil treatment with Cu, Mg, Mn, B, Zn, I. These elements usually affect the quality of crops rather than their quantity. These experiments were tried on wheat, sunflower and beans. It is assumed that the deficiencies verified also influence the cattle breeding of the soils.

Besides the pure salts of the above mentioned elements, copper ore slags — kindly provided by the Braden Cooper Co., Rancagua — were also used in the foregoing studies.

BIBLIOGRAFIA

Bibliography of the Literature on the Minor Elements. vol. I y II, New York 1948-51.

SCHWABE, G. H.—Aportes a la ecología regional. Bol. Soc. Biol. XXVII, Concepción, 1952.

I N D I C E :

	Pág
Goetsch, W.—El complejo vitamínico T y su importancia en la biología	3
Quijada, A. y Concha, J.—Potencial de demarcación en el sartorio aislado de "Calyptocephalus Gayi".....	23
Macchiavello, J., Concha, J. y Günther, B.—Incrementos de volumen y respuestas presoras en el sistema arterial.....	41
Günther, B. y Concha, J.—Un sencillo microrespirómetro volumétrico diferencial	55
Mena, E. y Concha, J.—Acomodación del músculo normal y denervado de rata. Acción de algunos anestésicos generales.....	63
Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L. y Abarca, B. F.—Factores que influyen en la acción analgésica de la morfina y derivados	73
Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L.—Factores que influyen en la acción analgésica de la morfina y derivados.....	83
Biel, F., Cabrera, M.—Acción del banthine sobre la secreción y motilidad gástrica en enfermos con úlcera péptica.....	89
Schürmann, R.—Sobre micosis de muguet por tratamiento antibiótico.	99
Weber, K.—Las reticulosis y sus relaciones con las hemoblastosis...	107
Wilhelm, O.—La gallina araucana.....	119
Schwabe, G. H.—Algunas observaciones sobre el crecimiento de Pinus radiata Don. en Mininco.....	129
Schwabe, G. H.—Ensayos de abonadura con elementos menores.....	141

**BOLETIN DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA
DE CONCEPCION (CHILE)**

Ból. Soc. Biol. Concepción (Chile)

CANJE

Deseamos establecer **Canje** con todas
las Revistas similares.

We wish to establish **exchange**
with all similar **Reviews**.

Wir wünschen den **Autausch** mit
allen ähnlichen Zeitschriften.

On désire établir l'**échange** avec toutes
les **Revue**s similaires.

Dirigir correspondencia al **BIBLIOTECARIO**

Prof. Dr. Carlos Henckel, Concepción (Chile), Casilla 29

Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción (Chile)

Filial de la Société de Biologie de Paris

Publicación auspiciada por la Universidad de Concepción

DIRECTORIO

PROF. DR. F. BEHN

PROF. DR. E. SOLERVICENS

PROF. DR. B. GÜNTHER

REDACTOR DEL BOLETÍN: PROF. DR. ERNESTO HERZOG

PROF. DR. G. GRANT

PROF. DR. C. HENCKEL

DR. R. MELO

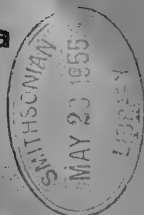
TOMO XXIX

AÑO 1954

EDITADO EN DICIEMBRE DE 1954

SUMARIO

	Pág.
de Tschischow, N. T.—Estudios citológicos en <i>Lapageria Rosea</i> Ruiz et Pav.	3
de Tschischow, N. T.—Alteraciones morfológicas en los cromosomas de <i>Vicia Faba</i> y <i>Pisum Sativum</i> , provocadas por la eserina, salicilato de eserina, ácido salicílico y salicilato de sodio.	7
Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Reveco, G. A., Muñoz, L. A., Contreras, M. E.—Influencia de algunos factores sobre la destrucción enzimática de la procaina y acetilcolina	19
Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Reveco, A. G., Yáñez, F. M.—Relaciones entre el poder colinoesterásico y procainoesterásico del suero humano en presencia de inhibidores reversibles.	27
Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L., Gamé, G. I., Reyes, R. R.—Factores que influyen en la acción analgésica de la morfina y derivados fármacos simpaticomiméticos, simpaticolíticos y parasimpaticomiméticos	39
Reveco, A. G., Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Merino, C. J.—Hidrólisis de la procaina por la enzima humana	49
Guenther, B., Mico, E.—Metabolismo de algunos anfibios en función del peso corporal	57
I. Eskuche, Abarca, F., Salvatore, F., Tohá, J., Hodgson, G.—Efectos entropoyéticos de leche de vaca	73
Abarca, F., Eskuche, I., Salvatore, F., Tohá, J., Hodgson, G.—Estudio del efecto entropoyético de sangre de vacuno incubada a baja tensión de oxígeno	77
Guerra, E., Günther, B.—Similitud mecánica y electrodinámica en Biología	87
Overdick-Erdmann, L.—Experiencias en 'Haplochromis Multicolor Hilgendorf 1903' relativos a las reacciones de la prole neomética.	93



BOLETIN
DE LA
SOCIEDAD DE BIOLOGIA
DE
CONCEPCION

FILIAL DE LA SOCIETE DE BIOLOGIE DE PARIS

PUBLICACION AUSPICIADA POR LA UNIVERSIDAD
DE CONCEPCION



TOMO XXIX

1954

CONCEPCION

Estudios citológicos en *Lapageria Rosea* Ruiz et Pav.

por

N. Titov de Tschischow.

Se observó cariocinesis y meiosis en botones florales de *Lapageria rosea*. Se ha citado sólo un estudio cariológico de esta especie (1). El número haploide de cromosomas encontrado es de $n = 15$, que sería igual al dado por Sanz de Cortazar.

Discusión de los métodos empleados

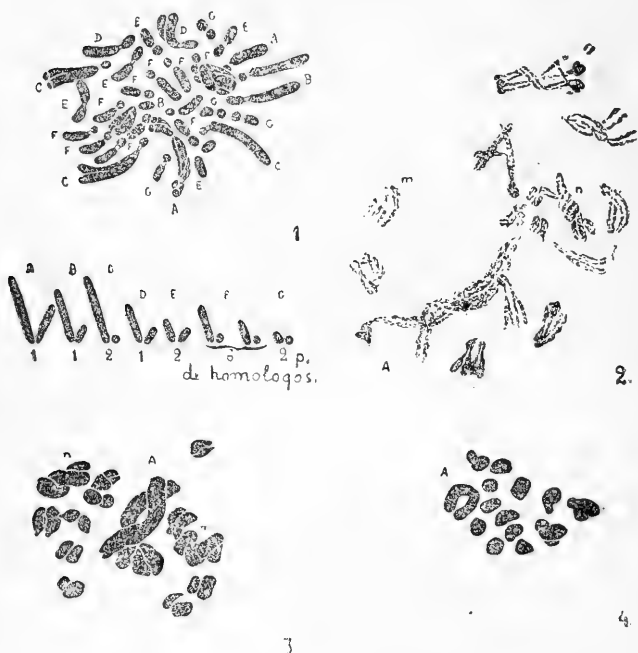
La búsqueda de los métodos de técnica microscópica presentó muchas dificultades. Al fin los botones florales de 1,5 cm. de largo fueron fijados por medio de una de las modificaciones del fijador de G. Lewitzky (ácido crómico 1% y formalina 10% : 5:5). Este método no se usa en general para investigaciones de anteras, porque en algunos casos no penetra a través de los tejidos tapetales. En nuestros estudios aproximadamente 20% del material fijado dió resultado satisfactorio. Los cortes de 15 y 17 micrones fueron hechos con micrótomo Reichert. La tinción escogida fue mediante reactivo de Feulgen, debido a que deja descolorados los nucléolos, los plástidos y otras inclusiones, que se encuentran en abundancia en las células. Las preparaciones hechas con esta técnica se presentan un poco borrosas, pero permiten ver bien la posición de los cinetecoros, la estructura del filamento cromosómico en la meiosis y casi siempre impiden la fusión de los cromosomas entre sí.

Los dibujos fueron hechos con ayuda de una prisma de Leitz con aumento de 2.500 diámetros.

OBSERVACIONES

Estudiando las metafases de las células somáticas se logró constatar con exactitud el número de cromosomas; $2n = 30$. El fenómeno de la fragmentación, mencionado en trabajo de Sanz de C. no fue encontrado. El cariotipo se muestra en el idiograma

(Fig. 1). Las mediciones no fueron hechas debido al número bastante elevado de los cromosomas y sus pequeños tamaños. La identificación de los homólogos (Fig. 1), no presenta muchas dificultades. Todos los cromosomas son acrocéntricos y no poseen constricciones secundarias. La posición de los cinetocoros está bien determinada. Los homólogos A se caracterizan por sus brazos largos, desiguales. Los cromosomas B, D, E, tienen sus brazos cortos iguales y los otros son de distintas longi-



1.—Cariocinesis. Metafase e idiograma de *Lapageria rosea* X2.500 d.

2.—Meiosis. Estado de diplotene.

3.—Meiosis. Metafase I.

4.—Meiosis. Anafase I.

tudes. Se encuentran 6 parejas de homólogos F con el largo de brazo mayor variable, pero están reunidos en un grupo y son muy difíciles de determinar. En tejidos parietales de anteras se encuentran con frecuencia las células poliploides con número cromosómico hasta $8n$.

El proceso de meiosis en anteras pasa con toda regularidad. En este caso no podemos conformarnos con la opinión de Sanz de C. En las fases de la división I se encontró 15 bivalentes de las cuales llama la atención gracias a su gran tamaño la bivalente A (Fig. 2, 3, 4). Este cromosoma tiene dos quiasmas que en estadio diploténico se encuentran uno cerca de otro (Fig. 2), después viene el desplazamiento de los quiasmas a lo largo del cromosoma, sin embargo éstos no alcanzan en metafase hasta terminalización (Fig. 3). Normalmente los cromosomas cortos se separan con rapidez. Los cromosomas largos no terminalizados tardan más en separarse. El deslizamiento paulatino de las cromátidas es lento, mientras se realiza la terminalización de estos cromosomas. Es el motivo porque ellos se retrasan en la anafase. Este fenómeno se puede observar con poca frecuencia en la anafase temprana de *Lapageria rosea*. Casi todos los bivalentes tienen por lo menos 1 y 2 quiasmas. La mayoría de los cromosomas pueden ser identificados en diferentes fases de meiosis, p. ej. cromosomas m y n (Fig. 2, 3).

RESUMEN

La aplicación de los métodos de fijación y tinción mencionados permite hacer las siguientes conclusiones:

1.—Se ha confirmado $n = 15$ como el número de cromosomas haploide de *Lapageria rosea*.

2.—El comportamiento de los cromosomas en cariocinesis y en meiosis se ha de considerar como completamente normal con número cromosómico constante, igualmente no se encontró el fenómeno de la fragmentación de los cromosomas.

3.—Se ha determinado el cariotipo de esta especie.

Se hicieron, además, algunas observaciones de los quiasmas en las células sexuales.

Agradecimiento.—Expreso al señor profesor A. Pfister, por su atención.

SUMMARY

A study on the cytology of *Lapageria rosea* is presented. The following conclusions could be drawn:

1.—*L. rosea* has $n = 15$.

2.—The evolution of the chromosomes in the cariocinesis and meiosis is normal with the chromosome number absolutely constant; besides no fragmentation of the chromosome could be observed.

3.—The specific caryotype was determined.

Moreover some observations on the quiasmas in the sexual cells were made.

LITERATURA CITADA

- 1.—Carmen Sanz de Cortazar. Estudios cromosomales en: *Lapageria rosea* Ruiz et Pav. 1946. Santiago.

Alteraciones morfológicas en los cromosomas de *Vicia faba* y *Pisum sativum*, provocadas por la eserina, salicilato de eserina, ácido salicílico y salicilato de sodio

por

N. Titow de Tschischow

(Con 3 láminas)

(Patrocinado por Prof. M. Ricardi) *

GENERALIDADES

El estudio de la influencia de distintos agentes físico-químicos, el conocimiento de las formas, del origen e inhibición del desarrollo normal del núcleo y de los efectos relacionados con él, tiene mucha importancia para las más diversas ramas de la investigación nucleada.

La medicina, tomando en cuenta el problema del cáncer, trabaja continuamente y siempre con mayor interés, por medio de sus instituciones de investigación, en el estudio de la acción de los distintos agentes físicos-químicos y sus más diversas combinaciones (v. trabajos H. Lettré (2) Inst. der Krebsforsch., Goettingen), trabajando con materiales experimentales in vivo e in vitro.

Las actividades de los investigadores en el campo de la citogenética se ha encausado principalmente con el fin de profundizar los difíciles problemas del origen del organismo in vivo, de su continuidad y evolución, cuyas soluciones dependen, generalmente, de un vasto conocimiento de las entidades que son la sede principal de la herencia orgánica: los cromosomas.

Desde el punto de vista de la citogenética, los primeros experimentos relacionados con la acción de la colchicina sobre plantas, fueron realizados por Blakeslee en 1937 (Robertis (7),

* Al señor Prof. A. Pfister dejo aquí mi mayor reconocimiento por la constante atención y buena voluntad.

el que observó un aumento de los cromosomas (poliploidía) por la acción de dicha alcaloide.

La duplicación experimental de cromosomas en plantas es un fenómeno, que hace tiempo viene llamando la atención de los citogenetistas y de cuantos trabajan en la selección de las plantas cultivadas. Las plantas poliploides son, en general, más fuertes y robustas, sin embargo este fenómeno tiene cierto límite, pues cuando se llega a una poliploidía demasiado elevada se produce enanismo. Estas formas son resistentes también al frío, lo que permite el cultivo de especies en regiones del clima riguroso.

La fisiología, por su parte, se dedica al estudio de los procesos que se efectúan bajo la acción de la colchicina. N. Kartaschowa (5) demostró por medio de la centrifugación un aumento de la viscosidad del protoplasma en las células de *Lycopersicon esculentum* y *Primula obconica*. F. Schwanitz (9) afirmó que comparando las plantas tetraploides con las diploides se observa, en las primeras, como consecuencia fisiológica, una disminución de la transpiración, respiración, presión osmótica y aumento del agua en sus tejidos.

En sus investigaciones sobre la histología de la glándula timo, Dustin, según H. Lettré (3), dedujo que en este órgano influyen muchísimo los agentes naturales sobre la división celular, p. ej. hambre. Esto obligó a Dustin a buscar agentes químicos cuya acción sería análoga a estos factores fisiológicos. El hecho de que en un organismo hambriento prevalece la acidez, lo llevó a comprobar que mediante inyecciones de ácidos, se obtiene el mismo efecto. Un resultado similar al cambiar los ácidos por base indujo a Dustin (1939) a la conclusión que la alteración de la mitosis en los distintos órganos depende de la interacción de diferentes agentes, tales como sales metálicas, compuestos orgánicos metálicos, alcohol, benzol, trypaflavina, alcaloides como colchicina, morfina, etc. Sustancias que Dustin denominó "poisons caryoclasiques" (1925), según Loveless (4).

En el año 1936 Ludford dió una definición más precisa de "mitotic poisons", para sustancias que tienen acción directa sobre la célula in vivo. Alteraciones producidas de este modo en el plasma existen normalmente, pero se manifiestan en menor grado y son más difíciles de observarlas.

Se ha tratado de clasificar los agentes químicos basándose en el grado de alteración que producen su acción sobre el huso o sobre los cromosomas que son:

- 1.—Fragmentación de cromosomas, recombinación y restitución (los efectos del tipo trypoflavina, R. Bauch (1)).

- 2.—Acortamiento y aglutinación entre sí de los cromosomas y cromátidas y el proceso muy lento de la división celular.

- 3.—Poliploidía. Los efectos de tipo colchicina.

Las teorías existentes para explicar la acción de los diferentes agentes químicos sobre los cromosomas y la división celular son numerosas. Algunos autores sostienen que la ma-

yoría de las sustancias actúan en la fase lipídica de la célula, comparándola con la acción de los narcóticos, (teoría de la narcosis: **Levan y Ostergren**, 1943, según **Sampayo** (8)). Se basan principalmente en que diversas sustancias acentúan su acción a medida que disminuye su solubilidad en el agua y aumenta en los lípidos de la célula.

Desde todos los puntos de vista y por medio de distintos métodos **Mitchell**, según **Marquardt** (6), demostró que inmediatamente después de la acción de los rayos X disminuye la cantidad del ácido desoxiribonucleico en el núcleo de la célula.

Darlington y otros hacen responsables a algunas partes de las alteraciones cromosómicas a la pérdida del ácido de desoxiribonucleico del núcleo y explica la aglutinación de los cromosomas y de las cromátidas entre sí por la despolimerización de este ácido.

Marquardt considera posible que por la acción de los efectos inespecíficos los agentes químicos no actúan directamente sobre los cromosomas, pero alteran el proceso fisiológico del metabolismo, formando posiblemente algunas sustancias y como resultado las células sufren fuertes alteraciones, hasta la muerte en algunos casos.

Estaba demostrado in vitro que los agentes químicos que producen disturbios en la estructura de los cromosomas reaccionan con todas las partes componentes de la célula: ácidos nucleicos, aminados, pectinas, proteínas.

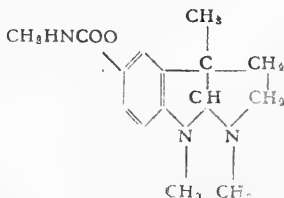
Ford, según **A. Loveless y St. Revell** (4), demostró la acción directa de los agentes químicos en combinación con el ácido desoxiribonucleico.

Es bien conocido que los agentes químicos retardan la acción de las enzimas y perturban de esta manera, fermentativamente, los procesos respiratorios de la célula. **Gilman y Philips**, según **Sampayo** (8) apuntan para el gas de mostaza una importante acción inactivadora de las enzimas, sobre todo de las fosfoquinasas.

INTRODUCCION A LA PARTE EXPERIMENTAL

Iniciamos nuestros trabajos citológicos estudiando experimentalmente la acción de la eserina o fisostigmina, alcaloide del grupo indólico, con el fin de observar alteraciones morfológicas de los cromosomas en cariocinesis de semillas germinantes de *Pisum sativum* y *Vicia faba*.

La fórmula:



Dicha sustancia fue seleccionada por presentar químicamente núcleos condensados como en el caso de la colchicina. Este razonamiento teórico tuvo éxito experimentalmente, pues la eserina mostró una acción semejante a la obtenida con la colchicina.

Como se trabajó en el principio con salicilato de eserina, quedó la duda de que los resultados obtenidos bien podían deberse al radical salicílico, por su anión inhibidora de fermentos. Así decidimos trabajar con eserina básica, ácido salicílico y salicilato de sodio por separado. Observando en el mismo orden que: el anión de la eserina básica fue poco diferente a la de su sal (salicilato), el ácido salicílico produjo poliploidía y el salicilato de sodio, este último fenómeno, un acortamiento de los cromosomas, es decir, una acción del todo igual a la observada con salicilato de eserina.

M E T O D I C A

Las semillas de *Vicia faba* y *Pisum sativum* se hicieron germinar en aserrín húmedo con el fin de obtener raíces tan rectas, como fuera posible. La germinación se efectuó a una temperatura de 20-25°C. Cuando las raíces crecieron hasta una longitud de 2-3 cm., las semillas se llevaron a rejillas de hierro galvanizado, para retener los cotiledones y dejar pasar las raíces libres hacia las soluciones a absorber. Dispuestas las semillas en la forma descripta se introdujeron en las soluciones de manera que sólo tres cuartas partes de las raíces quedaron sumergidas en ellas. Después de cierto tiempo, determinado para cada experimento, las puntas de las raíces, lavadas con agua destilada, se fijaban y las semillas se plantaban en los maceteros para seguir la observación. Se estudiaba los cortes transversales de las raíces, fijados por el método de G. Lewitzky (ácido crómico y formalina) y coloreados por la hematoxilina férrica, según Heidenhain, y reactivo Feulgen y Rosenberg.

El material así preparado fue montado en bálsamo de Canadá, después de rápidos pasajes por alcohol, carbón-benceno y benceno puro.

Los dibujos se hicieron con el auxilio de prisma de Leitz con aumento de 1.800 y 3.500 diámetros.

Como ya dijimos, se empleó salicilato de eserina, salicilato de sodio y ácido salicílico en forma de soluciones acuosas y eserina básica, previamente disuelta en pocas gotas de alcohol de 96°, de estas soluciones se preparaban, a su vez, soluciones acuosas más diluidas. La concentración de 0.05% fue obtenida directamente por disolución de la sustancia en el agua hirviente. Las concentraciones usadas para los experimentos eran de:

0.1%, 0.25%, 0.5% y 1.0%	para salicilato de eserina.
0.25%, 0.5%	para salicilato de sodio.
0.33%	para ácido salicílico.
0.05%, 0.33%, 0.5%	para eserina básica.

La duración de la exposición de las raíces fue de 3-70 horas. Las observaciones se encaminaban en dos sentidos:

- 1.—Inmediatamente.
- 2.—Unos días después del experimento.

RESULTADOS

Con salicilato de eserina se llevó a cabo el mayor número de experimentos, empleándose las distintas concentraciones de las soluciones y el tiempo de absorción de las raíces en contacto con ellas.

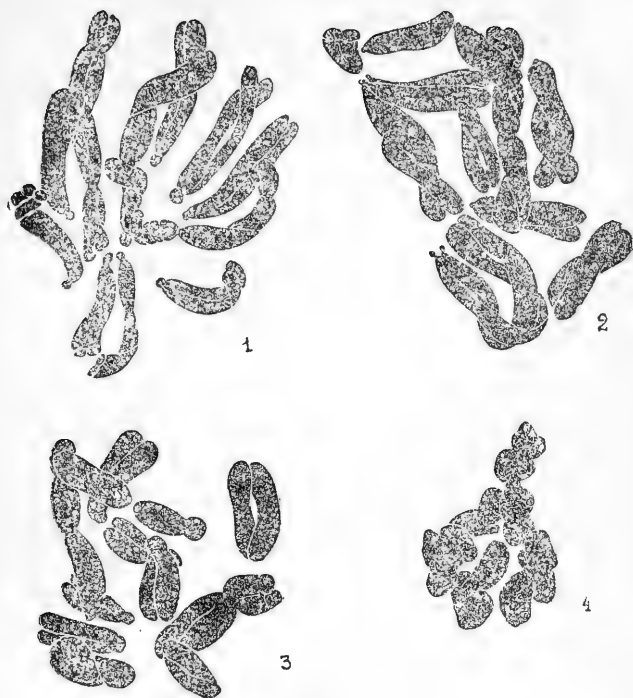
Las soluciones de menor concentración no produjeron casi ninguna alteración en la mitosis, excepto quizás, una pequeña en los cromosomas de *P. sativum* (Lám. 1, Fig. 2) y las plantas, según observaciones posteriores, eran un poco más robustas que el testigo. En lo que respecta a las concentraciones de 0.25% y 0.5% durante 3-6 horas, los cromosomas sufrían un pronunciado acortamiento y engrosamiento, dando la impresión de cuerpos muchos más compactos que lo normal (Lám. 2, Figs. 2 y 3). Especialmente fuerte fue este fenómeno en *V. faba*. Así, pese a la considerable cantidad de preparaciones observadas, fue prácticamente imposible hacer el recuento cromosómico en la metafase; estando, en general, los cromosomas tan ligados entre sí que hasta fue difícil reconocer las distintas fases de la mitosis.

En el estado de metafase y anafase los cromosomas quedan durante un tiempo considerable, como adheridos, prosiguiendo después la división muy lentamente, porque disminuye o desaparece la acción tractora del huso, formando en las anafases puente entre dos masas de cromatina, sin forma alguna, no teniendo ningún parecido con los cromosomas normales de esta fase (Lám. 3, Figs. 1, 2, 3-b). En la profase a veces se observa una aglutinación de cromosomas y de cromátidas.

El fenómeno de aglutinación se atribuye a la despolimerización del ácido desoxiribonucleico, debido a lo cual los cromosomas deberían perder consistencia, pero en nuestras preparaciones, teñidas con el reactivo Feulgen, encontramos una carga de cromatina aumentada. Posiblemente ésto sea una consecuencia de la acción directa de la sustancia sobre los cromosomas.

En las soluciones de 1% aumenta la tendencia de la aglutinación en los cromosomas, apareciendo núcleos deformados, en estado muy cercano a la pycnosis. Las raíces principales, después de estar durante 24 horas en la solución de salicilato de eserina de 1%, mueren y sólo después de 10-15 días aparecen las raíces secundarias, en el caso que la planta sobreviva. El desarrollo del tallo decrece en forma considerable: después de 24 días alcanza una longitud de 1-4 cm., mientras que los testigos alcanzan hasta 25-30 cm.

Las concentraciones bajas estimulan en menor o mayor grado el crecimiento de *V. faba*.



LAMINA 2

- 1.—*V. faba*. Testigo. Metafase. X3.500 d.
- 2.—Id. b. la acción de salicilato de eserina conc. 0.1 %
- 3.—" " " " " " 0.25%
- 4.—" " " " " " 0.05% durante 70 horas.

En las raíces de *P. sativum* y de *V. faba*, después de la exposición en las soluciones más concentradas, aparece a veces una pequeña tumeración submeristemática (tumor de Levan), que se puede considerar como un indicio del principio de la poliploidía, pero esta formación puede ser inducida también por fitohormonas.

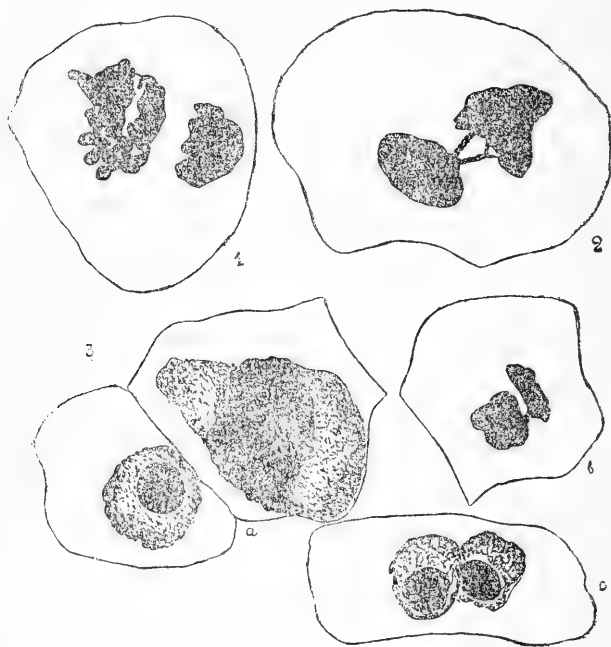
Eserina básica. — Las soluciones se prepararon de tres concentraciones: 0.33%, la cual corresponde a la cantidad de eserina básica contenida en 0.5 gr. de salicilato de eserina; segunda, de 0.5% y la tercera de 0.05%.

Las raíces de *P. sativum* y *V. faba* se suspendieron en las soluciones antes dichas por espacio de 6-70 horas, y se fijaron según técnica descripta. La acción de eserina básica de 0.33%

durante 6 horas y la de 0.05% durante 70 horas, pueden considerarse equivalentes. Toda la planta, posteriormente, se desarrolló normalmente.

En general, se puede constatar analogía en la acción ejercida por eserina básica y salicilato de eserina.

La diferencia consiste en: que las raíces que fueron fijadas después de unos días de la experiencia y que sufrieron la acción de la eserina básica, no presentaron células con número tetraploide de cromosomas, con excepción de una metafase, que se encontró en una raíz de *V. faba*, que resistió la acción de una concentración de 0.5% de eserina básica durante 70 horas. Sin embargo se puede encontrar las células en reposo binucleadas. Al mismo tiempo, por la acción del salicilato de eserina en igual



LAMINA 3

- 1.—*V. faba*. b. la acción eserina básica conc. 0.33%. Anafase X1.800 d.
- 2.— " Puente en anafase.
- 3.— " b. la acción de salicilato de eserina conc. 1.0%
 - a) célula con núcleo gigantesco,
 - b) puente en anafase,
 - c) célula binucleada.

o menor concentración, en una exposición de 6 horas, muchas células presentan poliploidía. Esto nos obligó a verificar la acción del ácido salicílico y del salicilato de sodio sobre las mismas plantas.

ACIDO SALICILICO ($C_7H_6O_3$).

Para preparar la solución se empleó una cantidad proporcional del ácido salicílico equivalente a la combinación de este ácido con la eserina para formar la sal correspondiente, así si la solución de salicilato de eserina era al 0.5%, la solución correspondiente de ácido salicílico se hizo a 0.17%. La duración de la exposición fue de 6 horas. Durante 2-3 horas después de la experiencia, las raíces se encontraban en estado de pérdida de la turgescencia, lo que no se pudo observar luego de las experiencias con la eserina. A pesar de la fuerte plasmolisis, la mitosis se efectuó normalmente, pudiendo observarse gran cantidad de profases. La estructura de los cromosomas no fue alterada, pero en las fases siguiente el proceso de la división se frena y después de una depresión transitoria, se observa formación de las células con 2 y más núcleos. En las mitosis posteriores de estos núcleos se observó tetraploidía en gran cantidad de células.

SALICILATO DE SODIO ($C_6H_4OHC_00Na$).

La acción de salicilato de sodio en soluciones 0.25 y 0.5%, es idéntica a la del salicilato de eserina, es decir, acortamiento y aglutinación de cromosomas y después de un tiempo— la poliploidía.

Los resultados se pueden exponer en el siguiente cuadro:

SUSTANCIA	Acortamiento y aglutinación	POLIPLOIDIA
Salicilato de eserina	sí	sí
Salicilato de sodio	sí	sí
Acido salicílico	no	sí
Eserina básica	sí	no

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se estudia la acción de la eserina, en diversas concentraciones, sobre la mitosis radicular en *V. faba* y *P. sativum*.

Las experiencias se basan en la absorción radical de las semillas germinantes de soluciones acuosas de salicilato de

eserina, de concentración conocida, que varían de 0.05 a 1.0%, durante un tiempo conocido.

Del estudio citológico de las raíces embrionales, previamente tratadas en la forma ya expuesta, se ha podido observar que, la división celular se detiene al efectuarse la profase y la metafase y aparece el acortamiento y aglutinación de los cromosomas, eliminación del huso y además se pudo observar con frecuencia la existencia de 2 o más núcleos en un citoplasma común. Posteriormente se comprobó la existencia de células con número tetraploide de cromosomas.

Para comprobar si los fenómenos descriptos se debían a la acción del radical salicílico o de la eserina, se repitieron las experiencias empleando soluciones acuosas de eserina básica, ácido salicílico y salicilato de sodio. Los resultados obtenidos para cada caso permitieron apreciar que el fenómeno es semejante al observado con salicilato de eserina, pero que no se produce la división de las células tetraploides en el caso de la eserina básica. Con ácido salicílico la mitosis es normal, pero más tarde se produce poliploidía. El salicilato de sodio tiene una acción igual al salicilato de eserina.

El presente trabajo ha permitido llegar a las siguientes conclusiones:

- 1.—Los salicilatos son estimulantes de la división de las células tetraploides.

- 2.—La eserina es una sustancia de acción análoga a la de colchicina, pero con una influencia más débil sobre la mitosis.

SUMMARY

The object of the present by study is to establish the action of physostigmin, in different concentrations, on the radicular mitosis in *Vicia faba* and *Pisum sativum*.

The experiments are based on the radical absorption of watery solutions of physostigmin salicylate in the germinating seeds in given concentrations, varying between 0.05% and 1.0%, and during a limited space of time.

In accordance with the methods already described, it was possible to observe in the cytology of the embryonal roots, that the cellular division was detained during the prophase and metaphase, and that a shortening and agglutination of the chromosomes, and a elimination of the chromosomal spindle took place. Besides, the presence of two or more nuclei in the common cytoplasm was frequently noticed. Subsequently the presence of cells with tetraploid numbers of chromosomes were demonstrated.

To prove if these phenomena were due to the action of radical salicylate or of physostigmin, the experiments were repeated with solutions of basic physostigmin, acid salicylate and sodium salicylate. It was observed, that the same results were obtained as with physostigmin salicylate, but the division in the tetraploid cells was not observed with basic physostigmin.

With acid salicylate the mitosis was normal, but later on a polyploidic division occurred. The action of sodium salicylate was similar to that of physostigmin salicylate.

On the basis of the present study, the following conclusions can be drawn:

- 1.—Salicylate stimulate the division of the tetraploid cells.
- 2.—Physostigmin has the same influence as colchicin, but the action is weaker on the mitosis.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—R. Bauch.—Trypaflavine als Typus der Chromosomengifte. Naturwiss. 1947. H. II.
- 2.—H. Lettré.—Naturwissenschaften 1947-51.
- 3.—H. Lettré.—Über Mitosegifte. Berichte der Physiologie, 1950.
- 4.—A. Loveless y St. Rewell.—New evidence on the mode of action of mitotic poisons. Nature, 1949, p. 938.
- 5.—N. Kartaschewa.—On the treatment of vegetable cells with colchicina. Comptes Rendus (Doklady) de Academia de Science de l'URSS, 1945, 9.
- 6.—H. Marquardt.—Neuere Auffassungen über einige Probleme aus der Pathologie der Kernteilung. Naturwiss. 1950, H. 18.
- 7.—E. D. de Robertis.—Citología general, 1952.
- 8.—M. Sampayo.—La quinoleína en la mitosis de *Allium cepa*. Genet. Ibérica, 1950, I.
- 9.—F. Schwanitz.—Referato, Fortschritte der wiss. Bot. 1949-5, BXIII.

Influencia de algunos factores sobre la destrucción enzimática de la Procaína y Acetilcolina.

por

Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Reveco, G. A., Muñoz, L. A., Contreras, M. E.

(Con 3 gráficos)

INTRODUCCION

Desde hace algún tiempo en el Laboratorio de Farmacología de la Universidad de Concepción, se han estudiado algunas características de la hidrólisis de la procaína por el suero sanguíneo en ácido para—aminobenzoico y dietil—aminoetanol. Esta hidrólisis ha sido atribuida a un fermento llamado provisionalmente procainoesterasa.

En trabajos anteriores (1) hemos demostrado que este factor hidrolítico es constante en el hombre, sufriendo variaciones en enfermedades hepáticas y afecciones tiroideas, también que se encuentra presente en algunos tejidos, entre ellos en el homogenizado (2) de encía humana.

Numerosos autores (3-4-5-6), han puesto en duda la especificidad de este fermento, sosteniendo que la llamada procainoesterasa no es sino la pseudo colinoesterasa.

Nos ha interesado especialmente dilucidar si el fermento que hidroliza la procaína es algún tipo de colinoesterasa.

En un trabajo anterior estudiamos (7) la reacción de estos factores enzimáticos frente a dos inhibidores reversibles de la colinoesterasa, la eserina y prostigmina. En esa comunicación pudimos establecer que estos dos factores se comportan de manera diferente ante los inhibidores mencionados, lo que nos ha hecho pensar se trate de dos enzimas diversos, sin que signifique esta conclusión suponer la existencia de un fermento específico que hidroliza la procaína.

Junto a ello, hemos estudiado la actividad enzimática del suero de animales bajo diferentes condiciones experimentales de funcionalismo tiroideo sobre los sustratos procaína y acetilcolina, ya que por algunas referencias bibliográficas podría servir para diferenciar ambos factores (21), junto a ello hemos ensayado el efecto de preincubar el suero a diferentes temperaturas y de cambiar el pH del medio.

La presente comunicación tiene por objeto conocer el com-

portamiento de estos probables enzimas en condiciones susceptibles de hacer variar su actividad.

M E T O D I C A

1.—Obtención de sangre: Por punción venosa de seres humanos de sexo masculino en ayunas y sin afecciones hepáticas ni tiroideas (9-10-11-12). Para las reacciones de hidrólisis de la procaína y acetilcolina, se sacaron 20 y 10 ml. de sangre respectivamente, se dejó reposar a la estufa a 37°C para obtener el suero, el que a su vez se centrifugó durante 10 minutos a 3.000 rev. por minuto.

2.—Determinación de procaínoesterasa: Para determinar la actividad procaínoesterásica del suero, se siguió la técnica de Hazard (13-14-15). Se introdujo ciertas modificaciones de acuerdo al plan de trabajos establecido.

La hidrólisis de la procaína se realizó en las siguientes condiciones:

a) Previa incubación del suero a distintas temperaturas.

b) A distinto pH.

3.—Determinación de colinoesterasa.

Dados los aparatos disponibles en nuestro Laboratorio, seguimos una técnica semejante a la utilizada por Orellana (8) con algunas modificaciones introducidas anteriormente por nosotros (7).

Metódica Experimental: Acción de Tiroidectomía.

1.—Obtención de sangre.

Por punción intracardiaca en conejos adultos de ambos sexos, cuyos pesos fluctan entre 1.500 y 3.000 grs. para las reacciones hidrolíticas de procaína y acetilcolina, se extrajo de 4 a 5 ml. de suero, el que a su vez era centrifugado durante 10 minutos.

2.—Técnica de Tiroidectomía.

Practicamos la tiroidectomía a un grupo de 10 conejos con control previo de hidrólisis para la procaína y acetilcolina, controlando las mismas durante 21 días una vez a la semana, posteriormente a la intervención. Estando el animal en posición decúbito dorsal se realiza la insición longitudinal desde la altura de los Gónion hasta el manubrio esternal. Se separan los planos musculares para descubrir la glándula tiroides que se presenta bilobulada adosada a cada lado de la tráquea, desde donde se retira cuidando no lesionar los paquetes vasculo-nerviosos de la zona.

Se sutura la piel, bastando adosar los bordes de los músculos para su correcta cicatrización.

Soluciones empleadas.

Las soluciones empleadas se prepararon con reactivos de distinto origen, (Merck, Baker's, Coleman & Bell, etc.), en todos los casos del más alto grado de pureza obtenible. Cálculos estadísticos.

Efectuamos los cálculos estadísticos de acuerdo a las indicaciones de Pizzi (16) y Günther (17).

RESULTADOS

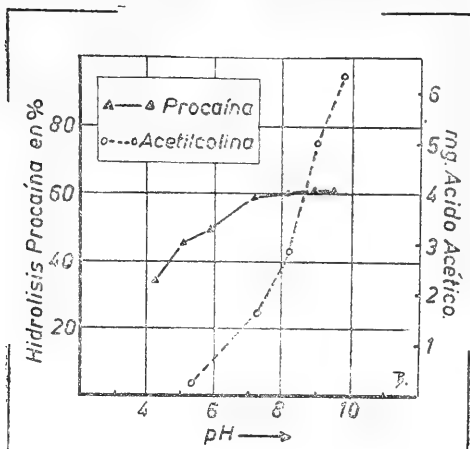


GRAFICO No 1

Efecto de los distintos pH sobre las reacciones de procainoesterasa y colinoesterasa.

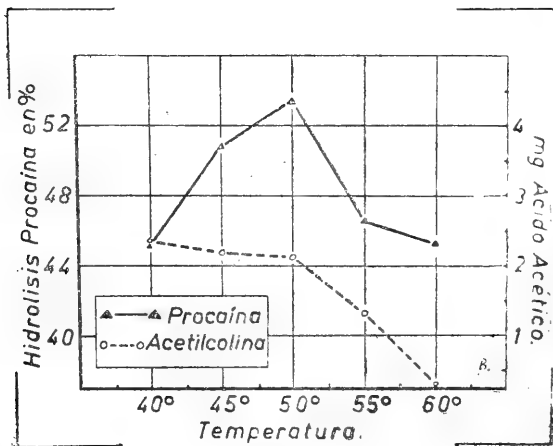


GRAFICO No 2

Efecto de pre-incubación del suero sanguíneo a distintas temperaturas.

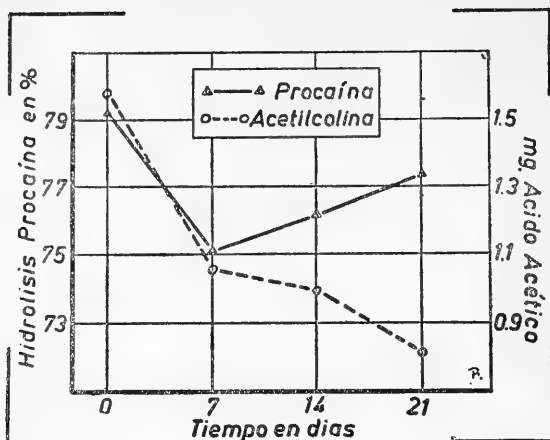


GRAFICO N.º 3

Efecto de la tiroidectomía sobre las reacciones de procainoesterasa y colinoesterasa.

Comentario: Los valores expresados en los gráficos N.ros 1, 2 y 3 son estadísticamente significativos.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Presentados los resultados anteriores, nos parece conveniente discutir las características de la actividad del suero sanguíneo sobre la procaina y acetilcolina, en las diferentes condiciones experimentales expuestas.

1.—En lo que se refiere a los cambios de pH, se observa también un comportamiento diferente; cuando el sustrato es procaina, se estabiliza su hidrólisis a partir de un pH 7.2, en cambio frente a la acetilcolina la actividad hidrolítica aumenta junto al aumento del pH, hasta las cifras más controladas por nosotros, esto es pH 9.8.

Este punto sería un argumento más, para estimar que ambos enzimas son diferentes, sin embargo podría tratarse de un mismo enzima que al encontrarse frente a dos sustratos, presenta una actividad máxima para cada uno de ellos a un pH distinto, lo que ha sido descrito para enzimas que actúan sobre más de un sustrato. De este modo no podemos considerar los resultados anteriores como una prueba definitiva sobre la no identidad de estos factores enzimáticos.

2.—De mayor importancia nos parecen los resultados encontrados cuando pre-incubamos el suero a distintas tempera-

turas. A medida que aumenta la temperatura hasta los 50°C se obtiene una hidrólisis uniforme para la acetilcolina y un aumento progresivo de la hidrólisis de la procaína. Después de esta temperatura, se observa una disminución de la acción enzimática sobre ambos sustratos, pero mientras a 60°C la hidrólisis de la procaína es semejante a la obtenida a temperatura de 40°C, para la acetilcolina a los 60°C, prácticamente no existe hidrólisis.

Se trataría por lo tanto de dos factores enzimáticos de comportamiento distinto a la temperatura de 60°C, mientras la pseudocolinoesterasa pierde su actividad totalmente a esa temperatura, el enzimo que actúa sobre la procaína mantiene su actividad sin alteración notoria.

Se podría interpretar lo anterior, aceptando que se trata de fermentos distintos en cuanto a su termoestabilidad. Conclusión que para considerarla definitiva nos exige descartar la posibilidad de una hidrólisis no enzimática de la procaína, como ha sido discutido por otros autores (18).

Estos resultados son diferentes a los descritos por Brygoo (19), el cual obtiene curvas semejantes para la influencia térmica en la actividad pseudocolinoesterásica y procainoesterásica, observando ausencia de hidrólisis a la temperatura de 60°C para ambos sustratos.

3.—De los resultados sobre influencia de la tiroidectomía se deduce especialmente que sobre el poder hidrolítico del suero de conejos existe diferencia según sea el sustrato acetilcolina o procaína.

Cuando el sustrato es procaína se observa una disminución de su hidrólisis que es estadísticamente significativa en relación a los valores de conejos normales, pero llama la atención que, en el control realizado a los 21 días, esta disminución tiende a desaparecer acercándose los valores de hidrólisis a los normales.

En cambio, cuando el sustrato es acetilcolina también se produce una disminución de su hidrólisis, pero ella se mantiene y sigue progresando hasta el control de los 21 días.

En uno de ellos existe una recuperación después de la tiroidectomía, es el caso de la procaína, en cambio en el otro, acetilcolina, no existe esta recuperación sino que el poder enzimático continúa decreciendo.

Ya hemos establecido algunas diferencias entre ambos enzimos, frente a inhibidores como la eserina y prostigmina (7) y en los cuales, ambos enzimos siguen caminos divergentes; todo ello junto a lo que presentamos en esta comunicación, nos hace pensar que en realidad se trata de dos enzimos diferentes.

El problema donde ubicar este enzimo, que no es pseudocolinoesterasa, ni tampoco un fermento específico para la procaína, substancia extraña al organismo, nos obliga, de acuerdo con otros autores (3) a revisar nuestros conceptos sobre clasificación de colinoesterasas, que hasta ahora se han dividido en pseudo y vera, según el comportamiento ante algunos ésteres de la colina.

Los resultados expuestos por nosotros, hacen pensar más bien que no existiría una pseudo-colinoesterasa, sino que varias colinoesterasas séricas, una de las cuales podría ser el factor que convencionalmente llamada procainoesterasa cuyo aislamiento e identificación significan trabajos posteriores que contribuirán a aclarar el problema de las colinoesterasas hasta hoy conocidas.

A pesar de estas conclusiones debemos citar la opinión de otros autores como Kallow (20) que en estudio en espectrofotometría con luz ultra violeta encuentran identidad entre ambos factores enzimáticos estableciendo sólo diferencias en la velocidad de la hidrólisis y afinidad sobre los sustratos, Procaina y Acetilcolina.

RESUMEN

Se estudia la actividad del suero sanguíneo ante los sustratos acetilcolina y procaina en diferentes pH, en los que también se aprecia una manera diferente de comportarse desde el punto de vista de la hidrólisis producida.

Se realiza el mismo estudio modificando la temperatura de pre-incubación del suero sanguíneo, en la que se observa una mantención del poder procainoesterásico a la temperatura de 60°C y una desaparición de la actividad colinoesterásica a esta misma temperatura.

Al estudiar la influencia de la tiroidectomía se observa una disminución de la hidrólisis de ambos sustratos en esta condición experimental, pero cuando se trata de acetilcolina esta disminución se mantiene, en cambio para la procaina ella desaparece con el tiempo post-operatorio.

Se discuten estos resultados en el sentido de establecer la identidad o diferencia de los factores enzimáticos que hidrolizan la procaina y la acetilcolina.

SUMMARY

The activity of blood serum with acetylcholine and procaine as substrate in different pH is studied, appreciating a different behavior from the point of view of the produced hydrolysis.

Modifying the pre-incubation temperature of blood serum a same study is done observing a conservation of the procaine-esterase activity at 60°C., while the choline-esterase action disappears.

Studying the tyroidectomy influence, the authors observed a decreased hydrolysis of both substrate in these experimental condition, but in case of acetylcholine a prolonged diminution was found in difference to the one of procaine which disappears in the post-operative.

These results are discussed from the point of view of the difference or identity of the enzymatic factors which hydrolyse procaine and acetylcholine.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Lecannelier, S., Vivaldi, E., Vallejos, C., Bardisa, L.—*Bol. Soc. Biol.* 27:161-168 (1952).
- 2.—Merino, J. C.—Tesis de Dentística. Univ. Concepción (1953).
- 3.—Thompson, R. H.—*British Medical Bulletin* N° 2-9:138-141 (1953).
- 4.—Hazard, R., Pignard, P., Cornee, T.—*Com. Rend. Soc. Biol.*, 143: 1425 (1949).
- 5.—Menaughton, R., Zoller, A.—*Proc. Soc. Biol.*, 70:165 (1949).
- 6.—Kalow, W.—*Feder. Proc.*, 10:132 (1951).
- 7.—Yáñez, F. M.—Tesis Quím. y Farm. Univ. de Concepción (1954).
- 8.—Orellana, A. J. M.—*J. Lab. Clín. Méd.*, 36:391 (1950).
- 9.—Hazard, R., M. & Mme. Picard-Jacquet.—*Presse Med.* 36:87-88 (1948).
- 10.—Hazard, R., & Dérot, M.—*Presse Méd.* 57:114 (1949).
- 11.—Hazard, R., Nicaud, P., & Laffitte, A.—*Presse Med.*, 57-113 (1949).
- 12.—Gitman, L., Greenblat, J., Mitchell, N.—*Proc. Soc. Exper. Biol.*, 71- 179 (1949).
- 13.—Hazard, R., Ravasse, J.—*Bull. Acad. de Med.* 8:585 (1945).
- 14.—Hazard, R., Ravasse, J.—*Compt. Rend. Soc. Biol.*, 139-13 (1945).
- 15.—Hazard, R.—*Actualités Pharmacologique*, I Série., 104:6 (1949).
- 16.—Pizzi, M.—*Los Métodos estadísticos*. Imp. Univ. de Chile, Santiago. 137:171 (1947).
- 17.—Günther, B.—*Ciencia e Investigación*, 1:407-414 (1945).
- 18.—Ting, K., Coon, N.—*Anesth & Analg.*, 29:263 (1950).
- 19.—Brygoo.—*Annales de Biologie Clinique*. 3:267-268 (1950).
- 20.—Kalow, W.—*J. of Pharmacology and Exp. Therapeutics*, 104:122 (1952).
- 21.—Mendel, B., Hamkins, D. R., Nishikamara, M.—*Am. J. Physiol.*, 154: 495 (1948).

Relaciones entre el poder colinoesterásico y procaino- esterásico del suero humano en presencia de inhibidores reversibles.

por

Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Reveco, A. G., Yáñez, F. M.

(Con 6 gráficos)

INTRODUCCION

Ha sido demostrado que el suero sanguíneo es capaz de hidrolizar la procaína en ácido p-ámido benzoico y dietil-ámido etanol, (1-2), lo que presupone la existencia de un fermento, el cual según Burgen y Keele, (3) sería de origen hepático, aún cuando Ting y Coon, (4) han comprobado que homogenizados de varios tejidos pueden producir este fenómeno. En nuestro laboratorio hemos constatado que homogenizados de encía también hidrolizan la procaína (5).

Hazard y col. llaman convencionalmente procainoesterasa a este enzimo, cuyo estudio ha permitido demostrar que el poder de hidrólisis del suero para la procaína, es variable según las diferentes especies animales, (6-7). Este, en el hombre, es de un valor constante en condiciones invariables de temperatura y pH, (8) siempre que exista normalidad de la función hepática y tiroidea, (9-10-11-12-13-14). Esto último ha sido comprobado por nosotros en un estudio sobre personas normales y bajo diferentes estados patológicos del hígado, así como en conejos con diversas alteraciones de la función tiroidea, (15).

Numerosos autores, (16-17-18) han puesto en duda que este fermento sea específico para la procaína y se ha planteado la hipótesis que se trate solamente de la colinoesterasa falsa o inespecífica.

Werner, (17) y Bollock, (19-20) han estudiado la destrucción de algunos anestésicos locales por acción de la colinoesterasa. Burgen, (3) a su vez ha constatado una acción inhibidora de las drogas anti-colinoesterásicas, sobre este poder procainoesterásico del suero.

Como este tema corresponde a una de las líneas de trabajo del Instituto de Farmacología de la Universidad de Concepción, hemos realizado un estudio acerca del poder hidrolítico del suero humano sobre sustratos de procaína y acetilcolina, en presencia de inhibidores de la colinoesterasa de tipo reversible, como son la eserina y prostigmina.

Augustinsson y Nachmansohn, (21) dieron a conocer que la incubación previa del enzimo (colinoesterasa) con inhibidores, antes de la adición de acetilcolina, aumenta en forma marcada esta acción inhibidora, lo que nos llevó también a estudiar la influencia del tiempo de pre-incubación, sobre la acción de eserina y prostigmina.

Ting y Ceon, (4) han puesto de manifiesto que homogenizados de cerebro no tienen prácticamente ninguna acción hidrolítica sobre la procaína, lo que podría estar en relación con el contenido casi exclusivo de este órgano en colinoesterasa vera o específica, (22-23). Con el fin de aclarar este hecho, hemos estudiado la acción de hemolizados de glóbulos rojos, que también contienen especialmente la Ch. E. específica, (24).

Las relaciones cuantitativas que existen entre la hidrólisis de acetilcolina y procaína, en las condiciones experimentales anteriormente mencionadas, constituyen la presente comunicación, cuyo último objetivo es establecer si el fermento destructor de la procaína es la colinoesterasa vera o falsa, o bien se trata de una esterasa diferente que podría corresponder a otras de las descritas, (25-26-27-28-29-30).

M E T O D I C A

Obtención de sangre.

Por punción venosa en pacientes del Hospital Clínico Regional de Concepción, en ayunas y sin afecciones hepáticas ni tiroideas.

Cuando se deseaba lograr hemolizado de glóbulos rojos, se adicionaba heparina. Se centrifugaba y obtenía suero o depósito de glóbulos rojos según el caso.

Determinación de procaínoesterasa.

Para determinar la actividad procainoesterásica del suero o del hemolizado de glóbulos rojos, aplicamos la técnica de Hazard, (10).

Determinación de colinoesterasa.

Para determinar la capacidad colinoesterásica de la sangre o tejidos, se han propuesto una serie de técnicas, (31-32-33). Dados los aparatos disponibles en nuestro laboratorio, seguimos una técnica semejante a la utilizada por Orellana, (34) con algunas modificaciones.

A 10 ml. de solución tampón preparada con glicerofosfato de sodio y barbital sódico, ajustada a pH 8.4 con ácido clorhídrico al 10% en potenciómetro de Beckman Mod. G y diluida en igual volumen de agua destilada, agregamos 0.2 ml. de suero y 1 ml. de solución de acetilcolina al 10% e incubamos una hora

a la estufa a 37°C. Luego adicionamos 0.5 ml. de solución colorante rojo cresol al 0.02% y leímos inmediatamente al fotocolorímetro calibrado previamente en ácido acético.

La actividad del suero la expresamos en miligramos de ácido acético liberado por el enzimo en una hora.

Usamos solución colorante rojo cresol y solución tampón diluida, para obtener una mayor zona de lectura en el fotocolorímetro.

En todas las determinaciones, los reactivos estaban calentados a la misma temperatura de incubación.

Ensayo de inhibidores.

En ambas técnicas estudiamos la acción del salicilato de eserina y bromuro de prostigmina; ensayamos el inhibidor sin pre-incubación y con pre-incubación. En el primer caso lo adicionamos al suero junto con el substrato y en el segundo, incubamos previamente el suero con el inhibidor y luego agregamos el substrato.

El porcentaje de inhibición lo calculamos aplicando la siguiente fórmula, (36).

$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \frac{\text{cantidad hidrolizada con inhibidor}}{\text{cantidad hidrolizada sin inhibidor}} \times 100$$

Soluciones empleadas.

En nuestras determinaciones empleamos soluciones purísimas.

Cálculos estadísticos.

Efectuamos los cálculos estadísticos de acuerdo a las indicaciones de Pizzi, (36) y Günther, (37).

RESULTADOS

TABLA N° 1.

Inhibición por salicilato de eserina.

Inhibición de la hidrólisis de procaína y acetilcolina por concentraciones variables de salicilato de eserina (S. E.), sin pre-incubación.

Cada resultado corresponde al T. M. de 15 protocolos.

S. E. mcgs. por ml. de suero	Procaína % de inhibición	Acetilcolina % de inhibición	"t"
(1)	(2)	(3)	(4)
200	51.59 ± 5.54	79.47 ± 4.94	14.596
20	48.92 ± 5.49	46.13 ± 7.00	1.360
2	23.16 ± 3.48	2.63 ± 3.64	15.914
0.2	9.67 ± 3.25	0.0	11.510
0.02	5.48 ± 1.93	0.0	10.988

Se puede observar que con concentraciones de 2, 0.2 y 0.02 mcgs. existe inhibición para la hidrólisis de procaína. Para acetilcolina ya a la dosis de 2 mcgs., es casi insignificante.

TABLA N° 2.

Inhibición de la hidrólisis de procaína y acetilcolina por concentraciones variables de salicilato de eserina (S. E.), pre-incubando 50 minutos. Cada resultado corresponde al T. M. de 15 protocolos.

S. E. mcgs. por ml. de suero	Procaína % de inhibición	Acetilcolina % de inhibición	"t"
(1)	(2)	(3)	(4)
20	55.35 \pm 2.77	71.11 \pm 6.27	21.888
2	51.36 \pm 4.26	52.51 \pm 8.36	0.502
0.2	39.06 \pm 5.56	35.66 \pm 10.69	1.100
0.02	27.36 \pm 8.91	18.55 \pm 9.10	2.466
0.002	16.31 \pm 4.22	12.49 \pm 7.30	1.598

Los porcentajes de inhibición de la hidrólisis de procaína y acetilcolina sólo son significativos a la concentración de 20 mcgs., a las dosis siguientes, éstos tienden a igualarse según los valores de "t" expuestos.

Observación: por problema de espacio y falta de tipo de imprenta, hemos abreviado "microgramos" en "mcgs".

INHIBICION POR BROMURO DE PROSTIGMINA

TABLA N° 3

Inhibición de la hidrólisis de procaína y acetilcolina por concentraciones variables de bromuro de prostigmina (B. P.), sin pre-incubación.

Cada resultado corresponde al T. M. de 15 protocolos.

B. P. mcgs. por ml. de suero	Procaína % de inhibición	Acetilcolina % de inhibición	"t"
(1)	(2)	(3)	(4)
200	52.5 \pm 7.07	59.75 \pm 3.85	3.647
20	37.8 \pm 7.26	11.29 \pm 3.11	13.059
2	9.71 \pm 4.37	2.73 \pm 1.65	5.915
0.2	0.0	0.0	—
0.02	0.0	0.0	—

Por el contrario de lo que ocurre con eserina, se puede ver una desaparición del efecto inhibidor en las concentraciones bajas de prostigmina, para procaína como para acetilcolina.

TABLA N° 4

Inhibición de la hidrólisis de procaína y acetilcolina por concentraciones variables de bromuro de prostigmina (B. P.), pre-incubando 50 minutos. Cada resultado corresponde al T. M. de 15 protocolos.

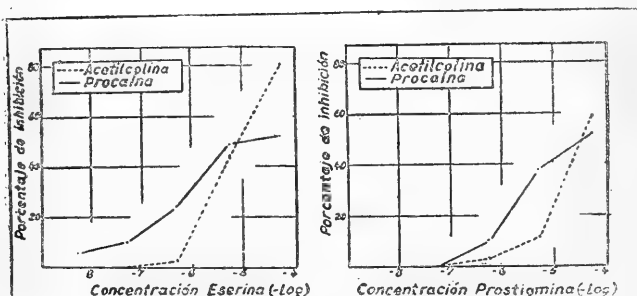
por ml. de suero	% de inhibición	% de inhibición	"4"
B. P. mcgs.	Procaína	Acetilcolina	
(1)	(2)	(3)	(4)
200	55.81 \pm 7.39	80.15 \pm 3.55	11.595
20	50.73 \pm 8.13	67.94 \pm 1.61	8.093
2	43.22 \pm 7.16	58.40 \pm 4.79	8.390
0.2	33.31 \pm 7.06	50.00 \pm 3.95	8.023
0.02	0.0	37.19 \pm 6.18	23.302

Se observa en esta tabla que los valores son significativamente diferentes para acetilcolina y procaína en todas las concentraciones del inhibidor.

Para visualizar los resultados anteriormente expuestos, presentamos los siguientes gráficos:

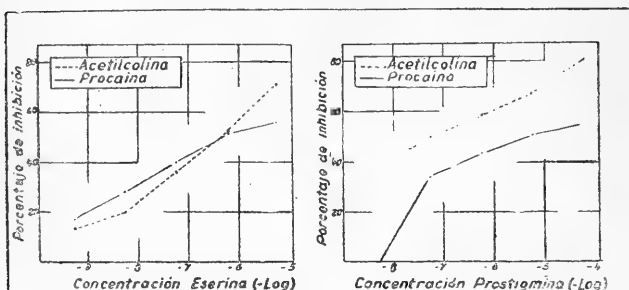
GRAFICOS N.ros 1 y 2

Efecto del salicilato de eserina y bromuro de prostigmina sobre la hidrólisis de procaína y acetilcolina, sin pre-incubar el suero con el inhibidor.



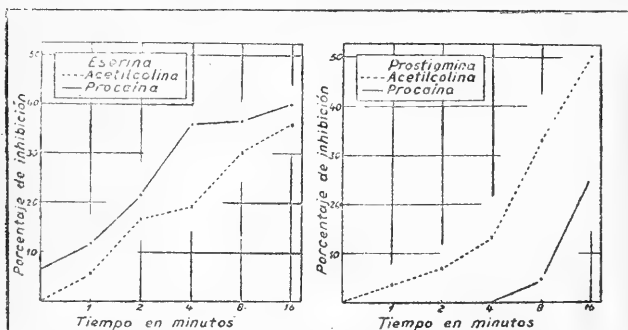
GRAFICOS N.ros 3 y 4

Efecto del salicilato de eserina y bromuro de prostigmina sobre la hidrólisis de procaína y acetilcolina, pre-incubando 50 minutos el suero con el inhibidor.



GRAFICOS N.ros 5 y 6

Influencia del tiempo de pre-incubación sobre la inhibición de la hidrólisis de procaína y acetilcolina.



En estos gráficos puede observarse que la inhibición de la hidrólisis de procaína, es de mayor intensidad durante todo el tiempo que la de acetilcolina, cuando el inhibidor es eserina. En cambio con prostigmina, se destaca el hecho opuesto y es especialmente notorio el distinto período de latencia del efecto inhibidor.

HIDROLISIS DE PROCAINA POR HEMOLIZADO DE GLOBULOS ROJOS

Glóbulos rojos lavados 4 veces en suero fisiológico y hemolizados por adición de 4 volúmenes de solución 0.025 M. de CO_2

HNa, se les determinó la actividad procainoesterásica por la técnica de Hazard, (10).

Se obtuvo el siguiente porcentaje de hidrólisis:

13, 89 \pm 1.78.

CONTROLES

A. — Se estudió el efecto del tiempo de reposo de la sangre sobre la actividad procainoesterásica. Con este objeto, a la sangre extraída de una misma persona se le determinó el poder de destrucción, inmediatamente de obtenida, a las 6 horas de reposo a la temperatura ambiente y a las 6 horas de reposo a 4°C.

TABLA N° 6

Efecto del tiempo de reposo de la sangre sobre la actividad procainoesterásica.

N° Protocolos (1)	Tiempo de Reposo (2)	% de hidrólisis (3)
18	0	84.13 \pm 3.66
18	6 hrs. T° ambiente	83.31 \pm 3.05
18	6 hrs. a 40°C	83.66 \pm 3.25

B. — Se estudió la actividad colinoesterásica del suero y plasma humano heparinizado provenientes de una misma persona. Los resultados son los siguientes:

Suero: 3.1 mgs. de ácido acético/ hora.

Plasma: 3.1 mgs. de ácido acético/ hora.

El objeto de este último control, fue asimilar los resultados de varios autores que utilizan indistintamente estas dos fuentes de pseudocolinoesterasa.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Los resultados de la presente comunicación, cuyo objetivo es determinar la naturaleza del enzimo que hidroliza la Procaína, requiere el análisis de algunos puntos con el fin de interpretarlos correctamente.

Llama la atención que los glóbulos rojos sean capaces de hidrolizar la Procaína, en un porcentaje de 13.8%, lo que no coincide con lo observado por Hazard, (16) quien no encuentra efecto por este medio. Esta diferencia de resultados podría explicarse por la distinta forma de preparación, así mientras Hazard emplea glóbulos rojos enteros, en nuestras experiencias los hemos utilizado hemolizados.

Esta hidrólisis podría deberse a la presencia de pequeñas cantidades de colinoesterasa inespecífica en el glóbulo rojo, ya que en nuestros controles con suero diluido al 1% encontramos una destrucción de 5.8% de procaína. Si esto no fuera efectivo habría que pensar en la existencia de otra esterasa, que tuviera la capacidad de hidrolizar la procaína.

Sin embargo, es necesario recordar las experiencias de Ting y Coen, (4) quienes demuestran que homogenizados de tejidos, sometidos a alta temperatura, conservan en parte una acción a la cual los autores llaman "hidrólisis no enzimática" de la procaína. Este mecanismo es difícil asimilarlo a nuestras experiencias en glóbulos rojos, por cuanto los autores citados no indican el tiempo en que esta preparación no enzimática, produce hidrólisis de la procaína.

Si se estudia la acción de inhibidores como eserina y prostigmina, en la destrucción de los substratos acetilcolina y procaína, en función del tiempo, según se observa en los gráficos 5 y 6, puede apreciarse que existe una diferencia entre ellos.

Cuando se trata de la eserina, no existe diferencia significativa entre los substratos acetilcolina y procaína, desde el punto de vista de la iniciación del efecto inhibidor. En cambio, cuando se utiliza la prostigmina, se observa una desigualdad entre los dos substratos: la acción inhibidora sobre la hidrólisis de la acetilcolina, se inicia precozmente comparada a la de la procaína.

Si recordamos los trabajos de Burgen, (38) en la destrucción de la acetilcolina existirían dos etapas:

- | | |
|-----------------|---------------|
| 1.— E + Ac. Col | EAc. Col |
| 2.— E Ac. Col | E + Ac. + Col |

En que E corresponde al enzimo. La primera de estas reacciones sería lenta y la segunda rápida, por lo tanto en el tiempo de hidrólisis es de principal importancia la primera reacción.

Los inhibidores, podrán retardar la hidrólisis tanto más precozmente, cuanto mayor sea la afinidad por el enzimo, esto en nuestro caso nos hace suponer, una mayor afinidad de la prostigmina sobre la colinoesterasa que sobre el probable fermento destructor de la procaína, lo cual nos haría pensar en la existencia de dos enzimos diferentes.

Pero si nos atenemos, no a la influencia del tiempo, sino a la concentración del inhibidor, nos encontramos con un hecho distinto. Observando la tabla-resumen N° 1, podemos ver que aún existe efecto inhibidor de la eserina sobre la hidrólisis de la procaína a las concentraciones de 0.2 y 0.02 microgramos, mientras que a estas concentraciones no existe esta acción sobre la destrucción del substrato acetilcolina.

En la tabla-resumen N° 3 se puede ver que en estas mismas concentraciones no existe efecto inhibidor sobre la hidrólisis de ambos substratos.

Esto demostraría que pequeñas concentraciones de eserina son más activas sobre la hidrólisis del substrato procaína, que

sobre la acetilcolina, manteniendo el tiempo constante. Luego mirado desde este punto de vista, la eserina tendría mayor afinidad sobre el enzimo destructor de la procaína.

Este hecho también se deduce de los gráficos N° 5 y 6 en que se estudia la influencia del factor tiempo, ya que en ellos puede apreciarse una mayor disminución de la hidrólisis de procaína que de la de acetilcolina. La línea entera está siempre por encima de la discontinua, esta última corresponde al substrato acetilcolina.

Es decir, si enfocamos el gráfico en el sentido de intensidad del efecto inhibitor, es mayor el de la eserina sobre la procaína que sobre la acetilcolina; en cambio si se mira en el sentido de precocidad de acción, es mayor el de la prostigmina.

Luego, la eserina tendría mayor afinidad por el enzimo hidrolizante de la procaína y la prostigmina por el que destruye la acetilcolina.

Una de las maneras de dar a conocer esta diferente afinidad, es estudiar la influencia que tiene la pre-incubación del enzimo con el inhibidor, antes de la adición del substrato, lo cual ya había sido demostrado en el sistema acetilcolina y colinoesterasa, (21-39-40).

En nuestros resultados exponemos la influencia de una pre-incubación de 50 minutos, antes de la adición del substrato acetilcolina o procaína, lo que puede apreciarse en los gráficos N° 3 y 4. Se observa un aumento del poder inhibitor de la eserina y de la prostigmina sobre ambos substratos, conforme a lo descrito por Augustinsson. Pero mientras para la eserina los porcentajes de inhibición sobre ambos substratos tienden a juntarse, tratándose de la prostigmina tienden a separarse, siendo mayor el efecto sobre la hidrólisis de la acetilcolina.

Esto haría pensar que la prostigmina tiene mayor afinidad sobre la colinoesterasa que sobre la procainoesterasa, de acuerdo a lo observado en función del tiempo; pero en el caso de la eserina en que aparecía una mayor afinidad para el enzimo hidrolizante de la procaína, la pre-incubación suprime esta diferencia. Probablemente la afinidad de la prostigmina por la colinoesterasa es mucho mayor que la de la eserina por la procainoesterasa.

Este efecto apareció descrito para la prostigmina cuando redactábamos el presente trabajo, en una comunicación de Foldes y col., (41) quienes confirman el hecho descrito, además hacen notar que en las concentraciones altas, el tiempo de pre-incubación no tiene influencia, lo que también se observa en nuestros resultados. Así, con 200 microgramos obtuvimos 52.50% de inhibición y pre-incubando 50 minutos, 55.81%; en cambio con dosis de 2 microgramos obtuvimos 9.71% de inhibición y con una pre-incubación de 50 minutos, 43.22%.

Estos autores concluyen, que la influencia del tiempo de pre-incubación depende de la afinidad del inhibidor (I) por el enzimo (E), encontrando que el compuesto Ro 2-683 tiene mayor afinidad que la prostigmina, sobre el enzimo que hidroliza la procaína.

Podría deducirse de nuestros resultados, que el enzimo destructor de la procaína es diferente del que actúa sobre la acetilcolina, lo que estaría de acuerdo con otros hechos experimentales.

Son importantes en este sentido los trabajos de Conway, (42) quien estudia la influencia de drogas anti-colinoesterásicas sobre la dosis letal de procaína, encontrando que mientras la eserina y el D. F. P. aumentan la dosis letal en un 23 y 16% respectivamente, la prostigmina baja esta dosis en un 35%.

Debemos citar un reciente trabajo de Vinsentini, (43) en que demuestra: que los antihistamínicos inhiben la procaínoesterasa, sin que exista relación entre el poder antihistamínico y esa acción inhibidora; y que es diferente entre los antihistamínicos estudiados, para la procaínoesterasa y colinoesterasa.

Mendel y col., (44) estudian las variaciones del poder colinoesterásico del suero de ratas tiroidectomizadas y encuentran que mientras la colinoesterasa falsa aumenta en un 200%, la vera no sufre variaciones. Esto sería diferente a lo observado por nosotros respecto al poder procaínoesterásico del suero de conejos tratados con tioracilo, (15) el que desciende considerablemente durante la hipofunción de la glándula, lo cual hablaría también en favor de una diversidad entre la Ch. E. inespecífica y el fermento que hidroliza la procaína. Por otra parte los datos obtenidos en enfermos hipertiroideos en relación al poder Ch. E. del suero son contradictorios según los trabajos de Gitman, (45) y Vorhaus, (46).

Por último debemos recordar que en el suero se han descubierto otras esterases que hidrolizan algunos fármacos, las cuales presentan diferencias con la colinoesterasa inespecífica; es el caso de la aspirinoesterasa demostrado por Glasson, (29).

Todos estos hechos parecen confirmar la hipótesis que se trate de enzimos diferentes. Sólo podremos aportar una conclusión definitiva al completar experiencias que actualmente se realizan en este Laboratorio.

RESUMEN

Se estudia la influencia de la eserina y prostigmina sobre la hidrólisis de procaína y acetilcolina por el suero humano.

Se encuentra un efecto inhibitor de ambas drogas sobre la hidrólisis de los dos substratos.

La influencia del tiempo sobre este efecto inhibitor parece demostrar que la prostigmina tiene mayor afinidad sobre el enzimo destructor de la acetilcolina.

La pre-incubación del enzimo con el inhibidor demuestra también esta mayor afinidad.

La eserina tiene, según los resultados, igual afinidad sobre el enzimo destructor de la acetilcolina y de la procaína.

Se demuestra también que los glóbulos rojos hemolizados son capaces de hidrolizar la procaína.

Se discute la interpretación de estos resultados, en el sentido de la identidad o diferencia de los enzimas que hidrolizan la procaina y la acetilcolina.

SUMMARY

The influence of eserine and prostigmine on procaine and acetylcholine hydrolysis by human serum, is studied.

An inhibitor effect of these drugs on the hydrolysis of both substrates, is found.

The influence of time on this inhibitor effect seems to show that prostigmine has more affinity on the hydrolysing enzyme of acetylcholine.

The pre-incubation of the enzyme with the inhibitor also shows this greater affinity.

Eserine has, according to the results, the same affinity on acetylcholine and procaine hydrolytic enzymes.

It is also demonstrated that hemolyzed red cells are able to hydrolyze procaine.

The interpretation of these results, from the point of view of the identity or difference of procaine and acetylcholine hydrolysing enzymes, are discussed.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Terp, P.—*Acta Pharmacol & Toxicol* 7: 381 (1951).
- 2.—Brodie, B., Lief, P. P., Peet, R.—*J. Pharmacol*, 94: 359 (1948).
- 3.—Borgen, A. S. V., Keele, A. C.—*J. Pharmacol*, 3: 128 (1948).
- 4.—Ting, K., Coon, M.—*Anesth. & Analg.*, 29: 263 (1950).
- 5.—Merino, J. C.—Tesis de Dentística. Universidad de Concepción (1953).
- 6.—Hazard, R., Bonamy, C.—*Compt. Rend. Soc. Biol.*, 142: 743 (1948).
- 7.—Aven, H. M., Light, A., Foldes, F.—*Fed. Proc.*, 12: 291 (1953).
- 8.—Higuchi, T., Havinga, A., Busse, L. W.—*J. Phar. Assoc.*, 39: 405 (1950).
- 9.—Hazard, R.—*Actualités et Pharmacologiques*. Masson & Co. I Série, 87: 111 (1949).
- 10.—Hazard, R.—*Presse Med.*, 44:529 (1948).
- 11.—Hazard, R., Bonamy, C.—*Compt. Rend. Soc. Biol.*, 141:278 (1947).
- 12.—Hazard, R., Ravasse, J.—*Compt. Rend. Soc. Biol.* 139:13 (1945).
- 13.—Hazard, R., Ravasse, J.—*Bull. Acad. de Med.* 8:585 (1945).
- 14.—Hazard, R., Bonamy, C., Cornec, A.—*Presse Med.*, 77: 1133 (1949).
- 15.—Vallejos, A. C.—Tesis Química y Farmacia (1952).
- 16.—Hazard, R., Pignard, P., Cornec, A.—*Compt. Rend. Soc. Biol.*, 143: 426 (1949).
- 17.—Werner, K.—*J. Pharmacol.*, 104:122 (1952).
- 18.—Augustinsson, K. B.—*Acta Physiol. Scand.* 27:10 (1952).
- 19.—Bullock, K.—*Quart. J. P.*, 31:97 (1948).
- 20.—Bullock, K.—*Quart. J. P.*, 31:266 (1948).
- 21.—Augustinsson, K. B., Nachmansohn, D.—*J. Biol. Chem.*, 179:543 (1949).
- 22.—Mendel, B., Myers, D. K.—*Nature* 170:928 (1950).
- 23.—Ord, M. G., Thompson, R. H. S.—*Biochem. J.*, 51:245 (1952).
- 24.—Augustinsson, K. B.—*Acta Physiol. Scand.*, 115 Sup 52, 50-75 (1948).
- 25.—Adams, D. H., Whittaker, V. P.—*Biochem. J.*, 44:62 (1949).

- 26.—Mc Naughton, R., Zeller, E. A.—*Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **70**:65 (1949).
- 27.—Myers, D., Mendel, B.—*Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **71**:357 (1949).
- 28.—Lévy, J.—*J. de Physiol.*, **43**:103 (1951).
- 29.—Glasson, B.—*Heyv. Physiol et Pharmacol.*, **9**: C 70 (1951).
- 30.—Myers, D., Mendel, B.—*Biochem. J.*, **53**:XVI (1953).
- 31.—Michel, H. O.—*J. Lab. Clin. Med.*, **34**:1564 (1949).
- 32.—Courville, D. A., Ledington.—*J. Biol. Chem.*, **190**:575 (1951).
- 33.—Ravin, H. A., Tson, K. C., Salligman, A. M.—*J. Biol. Chem.*, **191**:843, (1951).
- 34.—Orellana, A.—*J. M. J. Lab. Clin. Med.*, **36**:391 (1950).
- 35.—Foldes, F. F., Aven, M. H.—*J. of Pharmacol.*, **105**:255 (1952).
- 36.—Pizzi, M.—*Los Métodos Estadísticos. Imp. Univ. de Chile. Santiago.* **137**:171 (1947).
- 37.—Günther, B.—*Ciencia e Investigación*, **1**:407-414 (1945).
- 38.—Burgen, A. S. V. Brit.—*J. Pharmacol.*, **4**:219 (1949).
- 39.—Nachmansohn, D., Rothenberg, M. A., Feld, E. A.—*J. Biol. Chem.*, **174**:247 (1948).
- 40.—Nachmansohn, D., Wilson, I. B.—*Advances in Enzymology.*, **12**:259 (1951).
- 41.—Foldes, F. F., Aven, M. H., Davis, L. D.—*J. Pharmacol.*, **108**:330 (1953).
- 42.—Conway, A. C., Ting, K. S., Coon, M. D.—*J. Pharmacol.*, **96**:472 (1949).
- 43.—Visentini, P., Serembe, M.—*II Farmaco.*, **8**:255 (1953).
- 44.—Mendel, B., Hawkins, R., Nishikawara, N.—*Am. J. Physiol.*, **154**:495 (1948).
- 45.—Gitman, L., Greenblat, J., Mitchel, N.—*Proc. Soc. Exper. Biol.* **71**: 179 (1949).
- 46.—Vorhaus, L., Kark, R. M.—*Am. J. Med.*, **14**:707 (1953).

Factores que influncian la acción analgésica de la morfina y derivados. Fármacos simpaticomiméticos, simpaticolíticos y parasimpaticomiméticos.

(Con 3 gráficos)

por

**Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L., *
Gamé, G. I., Reyes, R. R.**

INTRODUCCION

Es preocupación del Laboratorio de Farmacología de la Universidad de Concepción el conocimiento del mecanismo de acción de las drogas analgésicas, especialmente la participación que en el tiene el sistema neuro-vegetativo.

Distintas hipótesis han sido formuladas para explicar la acción de los fármacos analgésicos. Así, Frommel y col. (1) han planteado una hipótesis según la cual el efecto analgésico de la morfina y de algunos de sus derivados se debe a su acción parasimpático-mimética.

En estudios anteriores (2), pudimos demostrar que la acción de los parasimpáticos-líticos es diferente, pues si bien existe antagonismo con la atropina, con otros parasimpaticolíticos, como la escopolamina y la homatropina, observamos más bien una potenciación. Hecho que nosotros explicamos por la diferente acción de estos fármacos sobre el sistema nervioso central, el primero excitante y los segundos depresores y no a sus acciones inhibitoras sobre el parasimpático.

Hemos realizado también, estudios sobre la acción de fármacos anticolinoesterásicos (3) observando que el D. F. P., uno de los más activos, no modifica la acción analgésica de la morfina. Todos estos hechos nos hacen pensar que la hipótesis de Frommel, no explica el mecanismo de acción de sustancias analgésicas como la morfina.

* Parte de esta investigación ha sido auspiciada por el Consejo de Investigación Científica.

Otros autores (4-5) han planteado la hipótesis según la cual la acción analgésica de la morfina, podría explicarse parcialmente por la liberación de adrenalina que se produce después de la inyección de este fármaco. Posteriormente Friends y Harris(6) han establecido la disminución o abolición de la acción analgésica de la morfina en ratas suprarrenalectomizadas, pero con injerto de la parte cortical en el ojo. Según estos trabajos no se atribuye participación a la corteza suprarrenal en el fenómeno de la analgesia, pero nosotros hemos demostrado una acción analgésica importante para la cortizona y desoxicorticosterona (7).

Junto a esta hipótesis se han planteado otras posibilidades, entre ellas la existencia de un mecanismo en el cual participe la histamina, acerca de cuya influencia en la conducción del estímulo doloroso existen datos sugestivos (8-9-10). También en el fenómeno de la analgesia se ha invocado la participación de un mecanismo hormonal del tipo hipófisis-suprarrenal (11-12). Finalmente, se ha tratado de explicar la acción última de la morfina por interferencia en diferentes etapas enzimáticas del sistema nervioso central, especialmente al nivel de la cadena de los citocromos (13-15-16-17-18).

En la presente comunicación se exponen una serie de experiencias realizadas con el fin de completar esta revisión sobre la participación del sistema neuro-vegetativo, estudiando la influencia de algunos fármacos simpático-miméticos, simpático-líticos y parasimpático-miméticos en la analgesia morfinica.

El estudio de la asociación de la morfina con algunos fármacos simpático-miméticos, desde el punto de vista de la acción analgésica, nos ha parecido de importancia, por cuanto nos permitirá evaluar en forma más exacta la hipótesis de Frommel sobre el mecanismo de acción analgésica de estos fármacos.

En referencia a fármacos simpático-líticos sólo encontramos dos referencias bibliográficas relativas a este punto, en ellas se estudian el efecto de Prisco, Dibenamina (19) y derivados hidrogenados de la ergotamina (20); se demuestra un efecto potenciador por estas drogas, de la analgesia morfinica en ratas. Hemos controlado estos resultados y extendido este estudio a dos simpático-líticos, más la yohimbina y la ergotamina, como también un compuesto sintético, químicamente vecino a los alcaloides del cornezuelo del centeno, la metil-ergobasina (Methergin).

En cuanto a los parasimpático-miméticos, ensayamos Pilocarpina, Carbaminoilcolina (Dorly) y beta-metilcolina (Urocolina) fármacos éstos cuya acción es bastante prolongada, por lo que preferimos su uso al de la Acetilcolina, cuyo efecto fugaz no era conveniente para nuestras experiencias.

M E T O D I C A

1.—Técnicas utilizadas.

a) Técnica de Presión Caudal.

Efectuamos las experiencias en un aparato construido en nuestro Laboratorio siguiendo las ideas dadas por **Green y Young**, (21) con algunas modificaciones hechas por nosotros (22).

El principio de esta técnica se basa en la modificación de la presión ejercida en la cola del animal, necesaria para provocar en éste una respuesta específica, cual es un movimiento de huida que se inicia con un brusco giro de la cabeza.

b) Técnica de la Superficie Caliente.

El fundamento de este método es la variación del tiempo de reacción a un estímulo térmico, aplicado a las patas de las lauchas, por medio de una superficie calentada a una temperatura constante, como ha sido detallado en algunos trabajos anteriores (7-10-22).

2.—Animales empleados.

Los animales empleados fueron lauchas blancas pertenecientes a una misma cepa, la misma empleada en trabajos anteriores. Aproximadamente de igual peso y edad. Usamos para el método de presión lauchas hembras y para el de superficie caliente grupos de machos y hembras.

Antes de realizar las experiencias, los animales fueron sometidos a un período de adiestramiento, con el objeto de acostumarlos a las manipulaciones y a los aparatos, obteniendo en esta forma respuestas más homogéneas.

3.—Soluciones empleadas.

Las distintas soluciones empleadas se prepararon con soluciones de cloruro de sodio al 9% y fueron inyectadas intraperitonealmente. Estas soluciones fueron calculadas de tal modo que se inyectaba 0.01 ml. por cada gramo de laucha.

Empleamos: Clorhidrato de morfina (May & Baker Ltd.).—Bencil-imidazolina (Prisco, Ciba).—Clorhidrato de yohimbina (E. Merck Darmstad).—Tartrato de ergotamina (Ginergeno, Sandoz).—Metan-sulfonato de dihidroergotamina (Dihidroergotamina (DHE) Sandoz).—Metil Ergobasina (Methergin Sandoz).—Carbaminoilcolina (Doryl Merck).—Beta-metilcolina (Urocolina).—Clorhidrato de Pilocarpina (Merck).—Clorhidrato de Adrenalina (Solución de Adrenalina (Clin).—Clorhidrato de fenil-amino-propanol (Efetonina Merck).—Nitrato de naftil-metilimidazolina (Privina Ciba).—Sulfato de B- (p-óxifenil) isopropil-metilamina (Veritol Knoll A. G.).—Noradrenalina (Levofed Wintrop).

4.—Cálculos estadísticos.

Nuestros cálculos estadísticos fueron orientados a determinar las D. E. 50 de las distintas combinaciones farmacológicas ensayadas, según lo indicado por **Burn** (23) y **Finney** (24).

Empleamos el método de "3 ensayos" buscando porcentajes cercanos al 50% en 3 dosis diferentes, convirtiendo luego las dosis en logaritmos y los porcentajes en probits.

Los cálculos de linealidad de los valores experimentales obtenidos, los hicimos conforme a los propuestos por Burn para cada determinación de D. E. 50 y expresándolos en forma ya convencional.

Para disminuir la variabilidad de las respuestas individuales empleamos un elevado número de animales según las indicaciones de Cahen y col (25), 60 animales para cada determinación de D. E. 50.

La determinación del umbral de analgesia se hizo en forma habitual según lo descrito por Bonnycastle y Cook, (26).

Nos remitimos a trabajos anteriores para mayores datos sobre las técnicas tanto biológicas como estadísticas utilizadas (7-10-22).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se presentan en forma de gráficos.

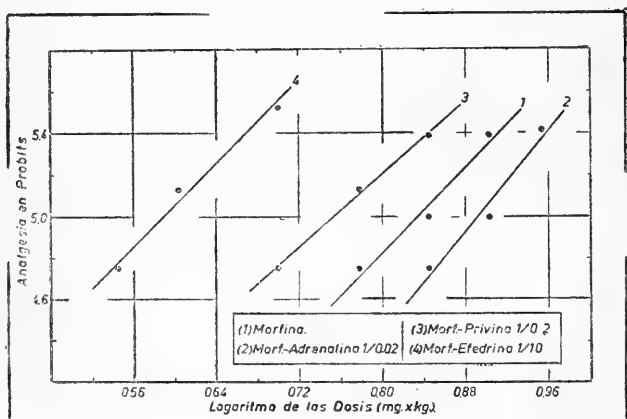


GRAFICO N.º 1

Acción de algunos simpático-miméticos sobre la D. E. 50 de Morfina. En cuanto al veritol y a la noradrenalina, ellos no modificaron el efecto analgésico de la morfina.

DISCUSION DE RESULTADOS

Comenzaremos por recordar que en el efecto analgésico de la morfina coexisten tres factores diferentes: elevación del umbral de dolor, acción depresora sobre la respuesta al dolor, que sería el factor más importante y por último una facilitación de la hipnosis (27).

Hacemos notar que nuestras mediciones sólo se refieren a la respuesta de los animales de laboratorio a estímulos nocicep-

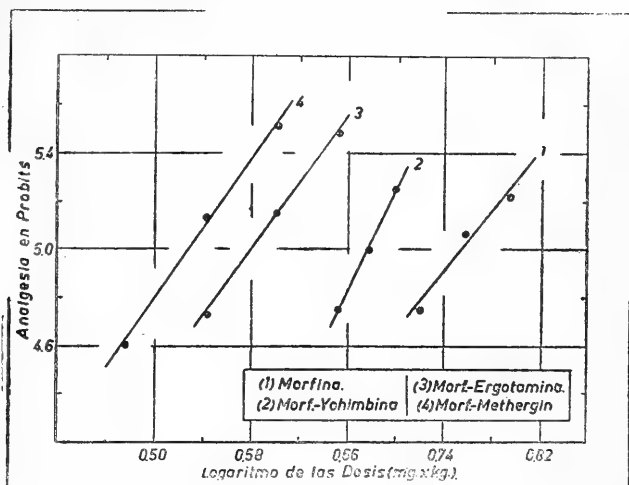


GRAFICO N.º 2

Acción de algunos simpático-lítricos sobre la D. E. 50 de Morfina.

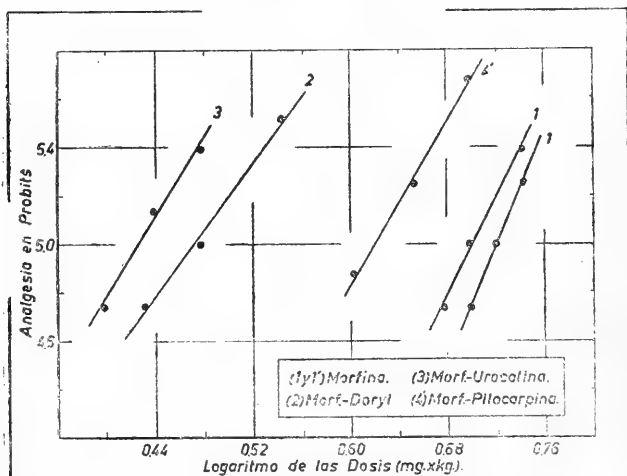


GRAFICO N.º 3

Acción de algunos parasimpático-miméticos sobre la D. E. 50 de Morfina.

tivos, como la presión y calor, y no a determinaciones del umbral de dolor, como las que se realizan con el aparato de Hardy, Wolff y Goodell en seres humanos, en los cuales se determina un hecho subjetivo: la percepción del dolor (27-28-29).

1.—En nuestros resultados con fármacos simpático-miméticos puede apreciarse que la adrenalina no modifica la D. E. 50 de morfina en forma estadísticamente significativa.

Estas experiencias serían contradictorias a las expuestas por otros autores sobre la liberación de adrenalina después de la inyección de morfina, como factor que contribuye a la acción analgésica de este fármaco, y más al hecho que la adrenalina tendría por sí misma una acción analgésica (18).

Sin embargo nuestras experiencias no nos permiten descartar totalmente estas teorías, por cuanto la falta de potenciación de la acción analgésica de la morfina por la adrenalina, podría deberse a la acción fugaz, rápidamente destruida en el organismo, de modo que en el momento de nuestra observación (40 minutos) después de la inyección de ambos fármacos ya no existiera efecto adrenalinico, sino sólo el de la morfina.

Tampoco podemos descartar que la inyección simultánea de morfina y adrenalina pueda retardar la absorción de la primera sustancia y modificar así su acción analgésica. La fugacidad de la acción de la adrenalina nos llevó a estudiar otros simpático-miméticos de acción más prolongada: efetonina, privina, veritol y la noradrenalina.

En nuestros resultados puede apreciarse que la efetonina aumenta la acción analgésica de la morfina en forma estadísticamente significativa, lo que podría invocarse como un argumento en favor de la participación del sistema nervioso vegetativo, en la acción analgésica de la morfina.

Existen varios factores que podrían explicar esta acción independientemente de la modificación del tono del sistema simpático; uno de ellos es las modificaciones vasculares, especialmente en el sistema nervioso central, otro sería que el mecanismo íntimo de la acción de efetonina es diferente al de la adrenalina, así mientras la segunda es inactivada por la amino-oxidasa, la primera tiene un efecto inhibidor sobre este fermento (30-31) lo que explicaría su acción simpático-mimética.

Nuestras experiencias, al ensayar privina asociada a la morfina no son definitivas, al parecer la privina aumenta el efecto analgésico de la morfina en ambas técnicas utilizadas, sin embargo el análisis estadístico de las variaciones de la D. E. 50 no da valores significativos.

Igualmente negativos fueron los resultados obtenidos al asociar la morfina al veritol y a la noradrenalina, en ambos casos no hubo variación significativa de la D. E. 50 de morfina.

2.—En general con todos los fármacos simpático-lítricos ensayados se obtuvo una disminución de la D. E. 50 de morfina que para todos ellos es estadísticamente significativa y que parece ser más notoria cuando se emplea la técnica de superficie caliente, lo cual indicaría que el efecto de estos fármacos

se ejerce especialmente en las partes altas del sistema nervioso central de acuerdo con lo discutido por Nickerson, (32).

Los resultados anteriores no guardan relación con la actividad simpático-lítica de estos fármacos (33-34-35), así el Methergin parece ser uno de los más activos a pesar de carecer de acción simpático-lítica (32-36), en cambio la Dihidroergotamina es uno de los que menos nos modifican la D. E. 50 de Morfina, aún cuando está entre los de mayor actividad simpático-lítica.

Nos parece interesante así mismo hacer notar que al controlar la acción analgésica propia de estos fármacos, no encontramos este efecto en ninguno de ellos, al ensayarlo con ambas técnicas y a las dosis más altas de las asociadas a la morfina.

Se podría suponer que los efectos observados se debieran a una acción tóxica precoz. Hicimos controles de toxicidad con todos estos fármacos, obteniéndose en todos los casos valores muy superiores a los que utilizamos junto a la morfina y de acuerdo con las D. L. 50 obtenidas por Tripod, (35)'.

3.—En general con todos los fármacos parasimpático-miméticos ensayados tuvimos una disminución de la D. E. 50 de Morfina que alcanza a valores significativos con las dosis más altas ensayadas, que aparecen en el gráfico N° 3.

Es sin embargo interesante hacer notar que a las dosis utilizadas mostraban efectos analgésicos propios.

Se ensayó para las drogas estudiadas los niveles de toxicidad estando en todos los casos muy distante de las dosis que se utilizaron asociadas a la morfina, de modo que los efectos observados no podrían atribuirse a una actividad tóxica incipiente. Junto a ésto es necesario mencionar que a las dosis utilizadas, éstos fármacos mostraban una clara actividad parasimpático-mimética que se manifestaba generalmente en salivación y lacrimación abundante.

Con la presente comunicación completamos una serie de trabajos en los que se estudia la acción de varios grupos de fármacos con distinto efecto sobre el sistema nervioso vegetativo en la analgesia morfinica. Es interesante comprobar que todos ellos, con la sola excepción de la atropina aumentan esta acción analgésica. Esta excepción de la atropina la explicamos en un trabajo anterior (2), por su efecto sobre el sistema nervioso central, el cual antagonizaría dicha acción de la morfina.

En algunas de las drogas estudiadas, podría atribuirse este efecto a que presentan acción analgésica propia, lo que explicaría su sinergismo con la morfina; sería este el caso de la eferina, la efedrina y parasimpático-miméticos.

Sin embargo el resto de estos fármacos aumentan el efecto analgésico de la morfina independientemente del tipo de acción que ejercen sobre el sistema nervioso vegetativo, como es el caso de la prostigmina, homatropina y los simpático-líticos recién estudiados.

Es para nosotros muy sugerente el hecho de que estas sustancias hagan descender la D. E. 50 de la morfina a valores muy semejantes entre sí (3,4 y 3,8 mgrs.), lo que nos hace suponer que podrían actuar por un mismo mecanismo, haciendo

descender el umbral de sensibilidad a la morfina, a un nivel más bajo.

Dicho mecanismo podría ser el estímulo del sistema hipofisis suprarrenal, en forma inespecífica por cualquier alteración del equilibrio neuro-vegetativo.

En la actualidad los trabajos en marcha de este Laboratorio estudian esta posibilidad en lo que se refiere al rol de la corteza suprarrenal en la sensibilidad de los animales de experimentación a los fármacos analgésicos, así como también al rol que le cabe a la histamina en el fenómeno analgésico.

RESUMEN

Se estudia el efecto de fármacos simpático-miméticos, simpático-líticos y parasimpático-miméticos sobre la acción analgésica de la morfina.

En general, las drogas simpático-miméticas no modifican el efecto analgésico de la morfina.

Las sustancias simpático-líticas, el Methergin, y los parasimpático-miméticos aumentan la acción analgésica de la morfina.

Se discuten estos resultados, advirtiendo, que algunos de los fármacos estudiados poseen a dosis elevadas acción analgésica propia.

SUMMARY

The effect of sympathomimetic, sympatholytic and parasymphomimetic drugs upon the analgesic action of morphine, is studied.

As a rule the analgetic action of morphine is not modified by sympathomimetic drugs.

The analgetic action of morphine is increased by parasymphomimetic, sympatholytic drugs and Methergin.

These results are discussed on advise that some of the studied drugs have, at high dosages, analgesic action of their own.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Frommel, E.—Actualités Pharmacologiques. III Série., 157-181 (1951).
- 2.—Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L., Abarca, B. F. — XXVIII 73. Bol. Soc. Biol. Concepción. (1953).
- 3.—Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L.—Bol. Soc. Biol. Concepción XXVIII 83 (1953).
- 4.—Slomka, M. B., Schueler, F. W.—J. A. Ph. A., 41:618-622 (1953).
- 5.—Schueler, F. W., Gross, E. G.—J. A. Ph. A., 38:34-81 (1949).
- 6.—Frances, J., Friends, M. S., Harris, S. C.—J. Pharmacol 93:161-167. (1948).
- 7.—Bergeret, R. I.—Tesis Quím. Farm. Concepción (1952).
- 8.—Rosethal, D. S., Sonnerschein, S. R.—Am. J. Physiol. 155:186 (1948).
- 9.—Piéron, H.—Rev. Gen. Science 59: 41-45 (1952).

- 10.—Píccro, S. D.—Tesis Quím. Farm. Concepción (1952).
- 11.—Szerb, J., Jacob, J.—*Experimentia*, 7/12: 466 (1951).
- 12.—Hudley, C. A., Mayer, J. H.—*Fed. Proc.*, 10:305 (1951).
- 13.—Quastel, J. H.—*Anesth. & Analg.*, 31:161-163 (1952).
- 14.—Harris, T. A. B.—The mode of action of anesthetic. Edinburg E. & S. Livingstone Ltd. 100-103 (1952).
- 15.—Wang, R. I. H., Bain, J. A.—*J. Pharmacol.*, 106:422 (1952).
- 16.—Abood, L. G., Gerard, R. W.—*J. Pharmacol.*, 108:261 (1953).
- 17.—Wang, R. I. H., Bain, J. A.—*J. Pharmacol.*, 108:349 (1953).
- 18.—Wang, R. I. H., Bain, J. A.—*J. Pharmacol.*, 108:354 (1953).
- 19.—Semler, H. J., David, U. A.—*J. Pharmacol.*, 106:414 (1952).
- 20.—David, U. A., Semler, H. J.—*Fed. Proc.*, 11:335 (1952).
- 21.—Green, A. F. Young, P. A.—*J. Pharm. & Quimiyoter* 6: 572-587 (1951).
- 22.—Muñoz, K. J.—Tesis Quím. Farm. Concepción (1953).
- 23.—Burn, J. H., Finney, D. J., Goodwin, L. G.—*Biological Standarization*. Oxford Univ. Press II Ed., 26-175 (1951).
- 24.—Finney, D. J.—*Probit Analysis*. Cambridge Univ. Press 20-61 (1947).
- 25.—Cahen, R. L., Epstein, H. J., Krementz, C. S.—*J. Pharmacol.* 94:328-337 (1948).
- 26.—Bonnycastle, D. D., Cook, L.—*J. Pharmacol.*, 100: 141-145 (1950).
- 27.—Hardy, D. I., Wolff, G. H., Goodell, H.—*Pain* Williams & Wilkins Co. Baltimore 1-15 (1943).
- 28.—Chen, K. K.—*J. Am. Pharm. Assoc.* 38:51 (1949).
- 29.—Wolff, G. H.—*Pain* II Edition, C. C. Thomas Publ. Springfield (1949).
- 30.—Raimond, P. Ahlquist.—*J. Am. Pharm. As.*, 38: 1-2 (1949).
- 31.—Krantz & Carr.—*Pharmacologic principles of medical practice* 590: 593. Ed. Williams & Wilkins Co. (1949).
- 32.—Nickerson, M.—*J. Pharmacol.*, 95:43-49 (1949).
- 33.—Bovet, D., Bovet-Nitti, F.—*Medicaments du systeme nerveuse vegetatif*. S. Karger S. A. Bals (1948).
- 34.—Levy, E. Z., North, W. C.; Wells, J. A.—*Fed. Proc.* 53: 342 (1953).
- 35.—Tripod, J.—*Helv. Phisiol. et Pharmacol.* 9:1 (1951).
- 36.—Stoll, A.—*Conferencias Pronunciadas*. Nuevas Gráficas S. A. Madrid (1948).

Hidrólisis de la Procaína por la encía humana

(Con 2 Tablas y 1 gráfico)

por

Revco, A. G., Lecannelier, R. S., Bardisa, L. U., Merino. C. J.

INTRODUCCION

El empleo de la procaína por vía endovenosa en diferentes afecciones (1), ha podido demostrar que esta droga es hidrolizada en ácido para-amino-benzoico y dietil-amino-etanol, en la sangre, por un fermento que se encuentra presente en el suero, al cual se le denomina convencionalmente, procainoesterasa, por **Koster** y col. (2).

En el Laboratorio de Farmacología, hemos estudiado las variaciones de este poder hidrolizante del suero sanguíneo, en diversas afecciones hepáticas, y experimentalmente en conejos en relación con la función tiroidea (3).

Nos preocupa dilucidar si este fermento ejerce en realidad acción específica sobre la procaína, o bien es el que corresponde a la llamada colinoesterasa inespecífica o falsa, como lo han sostenido algunos autores (1). Nuestros trabajos no parecen demostrar una identidad entre el fermento destructor de la procaína y las colinoesterasas, especialmente la inespecífica (4).

La extensa aplicación de la procaína como anestésico local en Odontología, y la especial importancia que tiene la duración de la anestesia, para cualquiera intervención quirúrgica, nos ha llevado a estudiar los factores que condicionan la duración del efecto anestésico local de la procaína. Entre ellos es suficientemente conocido el papel que juega la asociación con fármacos simpáticos-miméticos, en la prolongación del tiempo de anestesia (5).

En cambio, no existe en la literatura a nuestro alcance, informaciones sobre si la mucosa de la cavidad bucal (encías) poseen como el suero sanguíneo, un fermento capaz de hidrolizar y por lo tanto, inactivar la procaína.

Sobre este punto, sólo podemos citar los trabajos de **Norqvist** (6), quien demuestra la presencia de procainoesterasa

en los nervios periféricos de la rana, y los trabajos de Ting y Coon en homogenizado de hígado y riñón en la rata (7).

Por ser de especial importancia el resolver la posible presencia de un fermento de este tipo, en la encía, hemos estudiado en homogenizado de ella, la acción sobre la procaína, determinando después de incubar el porcentaje de droga hidrolizada.

Al demostrar en la encía una capacidad de hidrólisis sobre la procaína, nos ha parecido indispensable estudiar la acción que sobre este fenómeno tiene la adrenalina, fármaco que con frecuencia se asocia a la procaína en anestesia local, más aún, conociendo por trabajos de Benson y Meek, (8) la acción inhibitoria que posee sobre la colinoesterasa.

En esta comunicación informamos acerca de los resultados obtenidos por el poder hidrolizante de homogenizado de encía humana, sobre la procaína y la interferencia de la adrenalina en este fenómeno.

METODICA

1.—Obtención de muestras.

A) De encía.—Los trozos de encía normal se obtuvieron en el Policlínico Dental del Hospital Regional. Previa anestesia troncular o regional del paciente, se consiguió la muestra después de hechas las extracciones dentarias.

B) De sangre.—Las muestras de sangre las facilitó el Servicio de Maternidad del Hospital Regional. Se extrajo 8 a 10 ml. de sangre por punción venosa, y se dejó reposar para obtener el suero.

2.—Determinación de procainoesterasa.

A) Preparación del homogenizado. Se homogeniza la encía en un mortero con agua destilada a pH 7 (con este objeto se agregan gotas de solución de bicarbonato de sodio al 5%) y arena lavada. El homogenizado se centrifuga 10 min.

B) Obtención de suero. Se deja reposar la sangre para obtener el suero, el que a su vez se centrifuga 10 minutos.

C) Determinación de procainoesterasa. La determinación se realizó por la técnica de Hazard (9).

D) Ensayo de inhibidores. Se usó de inhibidor el clorhidrato de adrenalina en solución al 1 x 10.000. Se agrega simultáneamente con el clorhidrato de procaína y se incuba previamente con el sustrato un tiempo determinado (30, 10, 5, 1 minutos) en la estufa.

El inhibidor se agrega en una proporción de 1:4.

E) Soluciones empleadas.—En nuestras determinaciones empleamos soluciones purísimas.

F) Cálculo estadístico.—Para los cálculos estadísticos se siguieron las indicaciones de Pizzi (11) y Günther (12).

G) Corrección de resultados.—Como la encía empleada venía previamente infiltrada con procaína, se hizo un control de homogenizado sin agregarle clorhidrato de procaína. Después de calculados los porcentajes de hidrólisis de estos controles,

se descontaron los valores obtenidos, a fin de corregir los resultados finales.

H) Control del pH.—Se controló el pH del homogenizado de suero sanguíneo con procaína y adrenalina separadamente por el método potenciométrico. Los valores fueron de 7,93 para el suero y 7,9 para el homogenizado con procaína. En los preparados con adrenalina hubo un ligero descenso del pH en tres décimas más o menos.

RESULTADOS

TABLA N° 1

Hidrólisis de la Procaína

	15 minutos	30 minutos
Tiempo de incubación		
Suero sanguíneo		
T. M. Hidrólisis	80% \pm 2.43	
Homogenizado encía		
T. M. (corregido)	46% \pm 3.68	46.5 \pm 3.14

En la Tabla N° 1 se exponen los resultados de la hidrólisis de la Procaína por homogenizado de encía, en tiempos de 15 y 30 minutos en comparación al poder hidrolítico del suero sanguíneo.

TABLA N° 2

Acción de la Adrenalina sobre la hidrólisis de la Procaína

Inhibición (TM)

Homogenizado encía	64.7 % \pm 3.7
Suero sanguíneo	37.25% \pm 3

En la Tabla N.º 2 se exponen los resultados de la inhibición por adrenalina de la hidrólisis de encía humana.

Acción de la Adrenalina sobre la Procaínoesterasa en función del tiempo de pre-incubación

A) Homogenizado de encía.

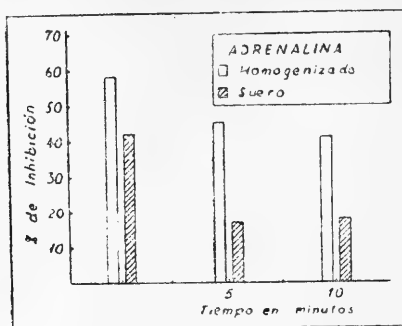
Homogenizado de encía con solución de adrenalina al 1 por 10.000, se deja incubar a la estufa a 37°C, 10,5 y 1 minutos, agregando después la solución de procaína al 1x10.000. Relación adrenalina-procaína: 1:4. Tiempo de hidrólisis, 15 minutos.

B) Suero sanguíneo.

Suero sanguíneo con solución de adrenalina al 1x10.000, se deja incubar a la estufa a 37°C, 10,5 y 1 minutos, agregando

después la solución de procaína al 1×10.000 . Relación adrenalina-procaína: 1:4. Tiempo de hidrólisis, 15 minutos. Los resultados se expresan en el gráfico N° 1.

GRAFICO N.º 1



DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Los resultados expuestos demuestran que el homogenizado de encía humana es capaz de hidrolizar la procaína en ácido paraaminobenzoico y dietilaminoetanol cuando se somete a un proceso de incubación, de 15 a 30 minutos. El poder hidrolizante es semejante en estos dos tiempos, por lo cual nuestros resultados se refieren sólo a incubación en 15 minutos, tiempo preferido por mayor comodidad en las determinaciones.

El poder hidrolizante de la procaína por el homogenizado de encía (46%), es inferior al encontrado por el suero sanguíneo de estos mismos pacientes (80%); hecho que está en contradicción con lo observado por Ting y Coon (7) en homogenizado de tejidos de ratas, en que establecen el siguiente orden decreciente de poder hidrolítico sobre la procaína: hígado, estómago e intestino delgado, riñón, intestino grueso, pulmón, placenta, músculo esquelético, útero, corazón, sangre, bazo y cerebro, este último se demostró prácticamente incapaz de hidrolizar la procaína, lo que estaría en relación con el contenido especial de este órgano en colinoesterasa vera y no falsa.

En este trabajo aparece la sangre como dotada de menor poder hidrolizante que los homogenizados de órganos, diferente a los observados por nosotros entre encía y suero.

La interpretación de esta diferencia podría estar en la distinta forma de preparar los homogenizados, pues hemos seguido la técnica de Umbreit y col. (10), usando agua destilada modificada, y no la de Ting y Coon, que consiste en solución fresca de bicarbonato Krebs-Ringer, lo que podría producir modificaciones de pH, ya que ha sido demostrado por varios autores ser uno de los factores que más influyen la velocidad de hidrólisis de la

procaína. Sin embargo, los controles de pH, realizados en nuestros homogenizados en el suero, dieron valores semejantes (7,9), por lo cual esta diferencia entre el poder hidrolítico no podría explicarse por diferencias de pH.

Sólo dos interpretaciones podríamos darle a este fenómeno, o la encía está dotada de un menor poder hidrolítico, ya que en los estudios de Ting y Coon, no ha sido estudiado este tejido, o bien la diferencia podría estar en el hecho que unas experiencias han sido realizadas en ratas y las nuestras en hombres, y son conocidas las enormes variaciones de poder esterásico del suero y tejidos entre las diferentes especies animales (14).

Otro fenómeno importante de discutir es la acción inhibitora que tiene la adrenalina sobre el poder hidrolítico del homogenizado de encía y suero, sobre la procaína. Este papel del inhibidor de la adrenalina es más marcado en el homogenizado que en el suero lo que podría estar en relación con una mayor capacidad de destrucción del suero sobre la adrenalina que la encía, es decir, diferencias de poder amino-oxidásico.

Si ello fuera efectivo, la acción inhibitora de la adrenalina debería ser reversible. Para demostrar este hecho realizamos experiencias en que incubamos tanto el suero como el homogenizado de encía con adrenalina en tiempos variables, antes de adicionar la procaína y pudimos observar, que mientras mayor era el tiempo de contacto con la adrenalina, menor era el poder inhibitor y ésto parece especialmente demostrativo, cuando se trata del suero.

Así, mientras que en la encía con 10 minutos de incubación previa, la inhibición es de 40,75%, con el mismo tiempo en el suero se obtiene una inhibición de 18,5%, lo que demuestra un mayor poder amino-oxidásico del suero que el homogenizado de encía.

Los valores más altos de inhibición se logran cuando el suero o el homogenizado se incuba sólo un minuto, antes de la adición de procaína, (58% en la encía y 42% de inhibición en el suero). Estos resultados dan a conocer que la acción inhibitora de la adrenalina es reversible y se produce cuando ella está presente en forma activa, pero cuando es inactivada, el fermento recupera su actividad.

En todos estos trabajos se ha controlado el pH, para descartar este factor de inhibición. Estas experiencias están en relación con lo demostrado por Benson y Meck (8), acerca del papel inhibidor de la adrenalina sobre la colinoesterasa.

Estas conclusiones nos han llevado a estudiar el papel que juegan en esta reacción de hidrólisis, otras sustancias simpático-miméticas, que como la efedrina actúan por un mecanismo diferente a la adrenalina, es decir, inhibiendo la amino-oxidasa (1). Son experiencias que forman parte de otro trabajo de investigación.

Nos ha parecido de utilidad realizar este estudio, por cuanto significa conocer por primera vez, otro factor que condiciona la duración de la anestesia local por procaína: la presencia de fermentos hidrolíticos que la destruyen.

Al mismo tiempo, agrega a la importancia de la asociación procaina-adrenalina otro factor, fuera del ya conocido de la vasoconstricción, cual es el de inhibir este fermento destructor de la procaina y contribuir así a la mayor duración del período de anestesia.

Por último, nos abre un camino que comenzamos a explotar: estudiar las variaciones de este poder hidrolítico en diferentes condiciones patológicas de la encía que puede llegar a dar mayores informaciones sobre la bioquímica de la encía patológica, de la cual conocemos entre nosotros los trabajos de Leng y col. (14).

RESUMEN

Se estudia la capacidad de homogenizado de encía humana de hidrolizar la procaina en ácido para-aminobenzoico y dietilaminoetanol.

Se demuestra que esta capacidad hidrolítica es inferior a la producida por el suero humano.

La incubación del homogenizado y sustrato de procaina en presencia de adrenalina disminuye la intensidad de esta hidrólisis.

La acción inhibitoria de la adrenalina sobre el fermento destructor de la procaina es reversible, lo que se demuestra con las variaciones de este efecto, en relación al tiempo de pre-incubación con adrenalina.

Se discute la interpretación de estos resultados.

SUMMARY

The capacity of homogenates of human gum to hydrolize procaine to para-aminobenzoic acid and dietilaminoethanol is studied.

It is shown that these hydrolitic capacity is less than the one produced on human serum.

The incubation of the homogenate and the procaine substrate in presence of epinephrine, lows the intensity of the mention hydrolisis.

The inhibitory action of epinephrine upon the hydrolitic enzyme of procaine is reversibly, and shows with epinephrine.

The interpretation of the results is discussed.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Kalow, W.—J. Pharmacol, 104:122-134 (1952).
- 2.—Koster, H.—& Kisch, B.—Exper. Med. & Surg., 1:71-83 (1943).
- 3.—Vallejos, C.—Inst. Farmacol. Concepción (1952).
- 4.—Yáñez, M.—Ins. Farmacol. Concepción (1953). Tesis (en prensa).
- 5.—Sollman, T.—Farmacología y sus aplicaciones a la terapéutica y a la toxicología, 1:365 (1949).

- 6.—Norqvist, P.—Acta Pharmacol. et toxicol, 8:217-225 (1952).
- 7.—Ting, K. S. & Coon, J. M.—Anesth. & Analg., 29:263-275 (1950).
- 8.—Benson, W. & Meck, W.—American Journal Physiol., 158:327 (1949).
- 9.—Hazard, R.—Presse Med., 44:529 (1949).
- 10.—Umbreit, W. W., Burris, R. H., Stanffer, J. F.—Burgess Publishing Co., 137 (1951).
- 11.—Pizzi, M.—Los métodos estadísticos. Imp. Univ. de Chile, Santiago.—137-171 (1947).
- 12.—Günther, B.—Ciencia e Investigación, 1:407-414 (1945).
- 13.—Augustinsson, K. B.—Acta Physiolog. Scandinavia, 6:50-75 (1948).
- 14.—Hazard, R.—Actualité Pharmacologiques I Serie, 104:6 (1949).
- 15.—Leng, A.—Rev. Dental de Chile, 5:215-221 (1943).

Metabolismo de algunos anfibios en función del peso corporal.

(Con 7 figuras)

por

B. Günther y E. Micco

I. INTRODUCCION

Desde que se iniciaron los estudios sobre el metabolismo basal llamó la atención el hecho, que la intensidad metabólica de los diversos animales no aumenta proporcionalmente al peso corporal. El metabolismo expresado por unidad de peso (Kg.), era menor en un animal grande que en uno pequeño, no solamente cuando se hacía la comparación en la misma especie, sino que también era válida esta regla biológica para animales de especies diferentes. Se trataba evidentemente de un fenómeno general, que fue planteado por primera vez por Sarrus y Rameaux (1838) y demostrado experimentalmente por Rubner (1883) y Richet (1885), quienes establecieron la llamada "ley de la superficie".* Según esta concepción, la producción de calor de un animal, y su equivalente consumo de oxígeno, son proporcionales a la superficie del cuerpo. En vista que el animal pequeño tiene una superficie relativamente mayor —en relación al peso corporal— se estimó, que las mayores pérdidas de calor (termolisis) determinaban una mayor producción de calor (termogénesis), manteniéndose siempre la constancia de la temperatura (homeotermia).

A pesar de la dificultad para medir exactamente la superficie de la piel, y a los diversos factores que influyen en su calidad como superficie radiante, como ser, que la estructura de la piel varía en las diversas regiones del cuerpo, que su irrigación sanguínea cambia de un lugar a otro, que la geometría de los animales es extremadamente diversa, los resultados experimentales parecían confirmar la llamada "ley de la superficie". El cálculo estimativo de la superficie corporal se hacía según la fórmula de Meeh, $S = K \cdot P^{2/3}$, según la cual

* Para mayores detalles históricos consúltase el trabajo de Kayser (12).

S = la superficie (m^2), K = constante y P = el peso del cuerpo (Kg.). Posteriormente se modificó el exponente $P^{2/3}$ o sea $P^{0.66}$ por otro, que daba una correlación más alta entre el peso del cuerpo y la intensidad del metabolismo (Brody)⁴. Este nuevo exponente del peso (P), resultó ser 0.734, con el cual se lograba una correlación absolutamente lineal entre el logaritmo del consumo de oxígeno y el logaritmo del peso corporal; siendo válida esta expresión desde el ratón de 20 g. de peso hasta el elefante que pesa aproximadamente 4.000 Kg. Numerosos autores se han ocupado posteriormente de la relación entre el metabolismo y el peso corporal; entre otros Benedict⁽²⁾, v. Hoesslin⁽¹¹⁾, Du Bois⁽⁷⁾, Brody⁽⁴⁾, Kleiber⁽¹⁶⁾, Günther⁽¹⁰⁾, Adolph⁽¹⁾, Kayser⁽¹²⁾, Zeuthen⁽²¹⁾.

Es interesante hacer notar que son muy numerosas y muy completas las informaciones que se poseen sobre el metabolismo basal en los animales homeotermos (aves y mamíferos); en cambio son relativamente escasos los datos acerca del metabolismo en los poiquilotermos, a excepción de los trabajos de Benedict⁽²⁾, Kayser⁽¹¹⁾, y de Zeuthen⁽²¹⁾, quien sintetiza los resultados obtenidos por varios autores.

A nuestro saber, no existe un estudio sistemático del metabolismo en ranas y sapos de diferente peso corporal. Nosotros estamos en condiciones particularmente favorables para emprender dicho estudio, por cuanto existen en nuestro país ranas muy pequeñas, como los "Rhinoderma darwini" (hasta de 1.6 g. de peso) y por otra parte es posible trabajar con el "Calyptocephalus gayi", que alcanza a más de 600 g. de peso.

Los resultados obtenidos tienen un doble interés, por una parte permiten estudiar la relación entre el peso del cuerpo y el metabolismo en una amplia escala de pesos (relación 1:500) y por otra parte servirán para verificar la validez de la llamada "ley de la superficie" en animales que no poseen mecanismos de termoregulación (poiquilotermos).

II. MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron ranas y sapos de diferente peso corporal, pertenecientes a las siguientes familias: Cystignatidae, Peloba-

FAMILIA	Término medio del peso en (g)	Rango de pesos en (g) -	Nº de animales estudiados
1) Bufonidae (Rinoderma darwini)	1.9	1.6 - 3.0	6
2) Cystignatidae	5.2	1.7 - 7.0	10
3) Pelobatidae	5.8	1.5 - 11.4	14
4) Hylidae	6.0	1.2 - 12.0	14
5) Bufonidae	62.0	47.0 - 70.0	15
6) Calyptocephalidae.	306.0	57.0 - 640.0	29

tidae, Hylidae, Bufonidae, Calyptocephalidae,* cuyos pesos corporales se han indicado en cada caso.

Las mediciones metabólicas se realizaron en verano e invierno (1954), a fin de conocer la influencia estacional sobre la intensidad metabólica. Los animales se mantuvieron en viveros al aire libre y alimentados periódicamente con trozos pequeños de carne, que se introducían directamente en el estómago. Antes de iniciar cada serie de mediciones los animales fueron mantenidos en el laboratorio, a fin de aclimatarlos a las condiciones en que se iban a realizar las mediciones. Todas las determinaciones se realizaron en ayunas.

Antes de cada medición se determinó el peso corporal (g), la temperatura ambiente ($^{\circ}\text{C}$) y la presión barométrica (mmHg), para reducir los volúmenes de gas a condiciones normales de presión y temperatura.

El metabolismo se midió determinando el consumo de O_2 en función del tiempo y se expresó en mililitros (ML) de O_2 por unidad de peso (Kg) y por hora (H).

La determinación del consumo de O_2 se hizo mediante un aparato ideado por uno de nosotros (B. G.). Se trata de la aplicación del "principio volumétrico diferencial", original de Pettersen, que por lo demás ha sido aplicado extensamente en microrespirometría.**

El respirómetro (Fig 1), consta de dos tubos de vidrio, de iguales dimensiones y de idéntica estructura (A, B), unidos por un manómetro diferencial (C) de diámetro interior de 2.5 mm. y que posee dos dilataciones a distinto nivel. Ambos reservorios de vidrio están comunicados con la atmósfera (D, E) y uno de ellos a una jeringa de inyección de dimensiones adecuadas (F), cuya capacidad está en relación con la magnitud del consumo de O_2 que se desea medir. Para los animales pequeños utilizamos jeringas pequeñas de 2 y 3 cm^3 , en tanto que para los sapos más grandes la jeringa de medición debe ser por lo menos de 5 o de 10 cm^3 .

El respirómetro se monta en un block de lucita, en cuya base se fija una lámina de plomo, a fin de que el respirómetro pueda quedar sumergido permanentemente en un termóstato lleno de agua. Es indispensable que el agua del termóstato se mantenga en movimiento (agitador) para que las temperaturas en los vasos A y B sean iguales.

Técnicas de medición.

a) Velocidad del equilibrio térmico.—Antes de utilizar este

* Agradecemos al Prof. Fidel Jeldres su valiosa ayuda en la clasificación de los anfibios utilizados en este trabajo.

** Para mayores detalles véase: B. Günther y J. Concha: Un sencillo microrespirómetro volumétrico diferencial. Bol. Soc. Biol. Concepción 28:55, 1953.

respirómetro es necesario saber cuánto demora el instrumento en alcanzar el equilibrio térmico.

Primeramente se introduce en el manómetro diferencial

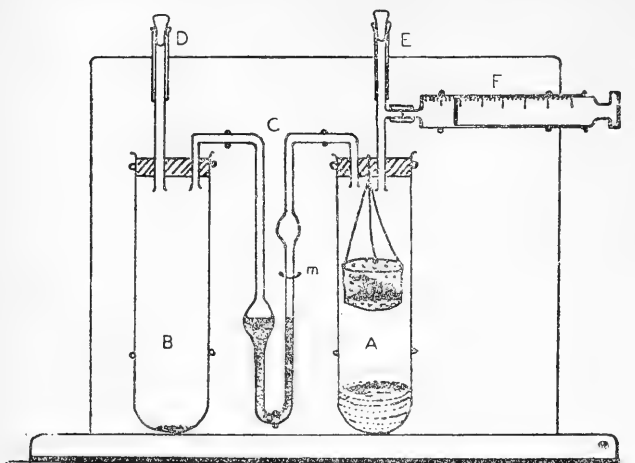


FIGURA 1

Respirómetro diferencial. A, B = tubos de vidrio; C = manómetro diferencial; m = nivel de referencia; D, E = comunicaciones con el exterior; F = jeringa calibrada.

(Fig. 1), una cantidad de líquido indicador (partes iguales de nujol y de kerosene destilado a 180-200 C°), al cual se pueden agregar vestigios de Sudán III para colorearlo. Enseguida se sumerge el respirómetro bajo agua y se cierran las comunicaciones D y E con la atmósfera, ocluyendo mediante tapones de vidrio los extremos de ambos tubos de goma. Periódicamente se miden los volúmenes en la jeringa, ajustando el nivel del líquido en el manómetro diferencial hasta alcanzar una marca determinada (m).

La Fig. 2 muestra dos series de mediciones destinadas a establecer, en dos respirómetros de diversa capacidad, la velocidad con que se llega al equilibrio térmico, lo que acontece entre los 20 y 30 minutos de sumergido el respirómetro en agua a temperatura ambiente. Los datos experimentales demuestran claramente que las mediciones del consumo de O_2 , sólo pueden iniciarse después de que hayan transcurrido 30 minutos desde que se ha iniciado el experimento.

b) **Medición del metabolismo.**—En el fondo del vaso de medida (A) se introduce un trozo de papel filtro impregnado en KOH al 5% que sirve para fijar el CO_2 producido. El animal de experimentación —previa pesada— se suspende en el interior

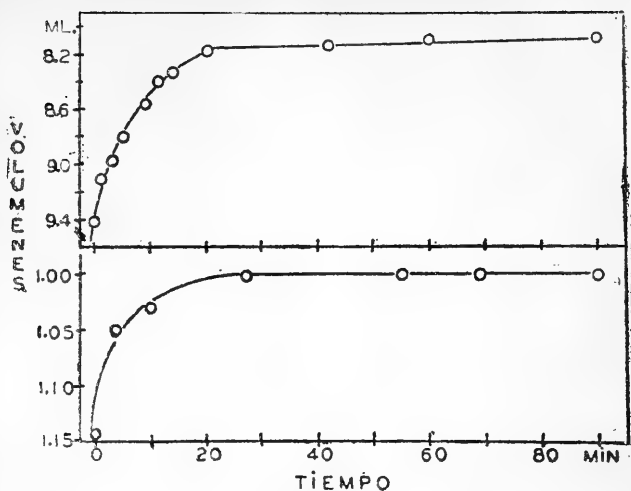


FIGURA 2

Curva de equilibrio térmico en función del tiempo en dos respirómetros de diferente capacidad.

de este mismo vaso después de haberlo introducido en una pequeña jaula de material plástico totalmente perforada (Fig. 1). Se sumerge el respirómetro en el baño termostático y se mantienen abiertas las comunicaciones (D y E) con la atmósfera. Antes de iniciar las mediciones se espera media hora, hasta que se haya establecido el equilibrio térmico en el respirómetro.

Cabe señalar que de cada animal se obtuvieron cuatro series de mediciones independientes; de manera que el término medio del consumo de oxígeno sea representativo del metabolismo.

c) **Determinación del cociente respiratorio.**—Para medir el cociente respiratorio (volúmenes de CO_2 /volúmenes de O_2), hemos adoptado el mismo principio que Scholander⁽²⁰⁾ utilizara en su microrespirómetro. Consiste en la alternancia de períodos con y sin absorción de CO_2 , lo que consiguió dicho autor abriendo y cerrando un pequeño depósito de material plástico que contiene papel de filtro impregnado en una solución de KOH. En el presente aparato está representado por un sistema de absorción semejante al procedimiento clásico de Regnault y Reiset. La Fig. 3 representa esquemáticamente el respirómetro con absorción facultativa del CO_2 . El vaso que contiene el animal de experimentación (A) está conectado por medio de dos tubos de goma a los extremos de un tubo en U, que en sus dilataciones (K) contiene perlas de vidrio y solución de KOH al 5% que sirve para la absorción del CO_2 . El sistema de absorción (K), está dispuesto en la parte posterior del respirómetro (Fig. 3, vista

lateral). Al ser desplazado éste manualmente en sentido vertical, la solución de KOH es movilizada, con lo que se provoca la circulación de aire en la cámara de respiración (A). Cuando se deja inmóvil el sistema de absorción (K) se mide el cociente respiratorio, en tanto que el movimiento de vaivén del dispositivo de absorción sirve para determinar el consumo de O_2 .

d) **Frecuencia cardíaca y respiratoria.**—Para medir la frecuencia cardíaca se hicieron registros electrocardiográficos en estos animales, * inscribiéndose la corriente de acción en función del tiempo —especialmente la onda R— después de colocar los electrodos directamente sobre la piel. Un electrodo se aplicó en el dorso y el otro era una lámina metálica sobre la cual se colocó el animal.

La frecuencia respiratoria se determinó introduciendo el animal en una caja de material plástico y se anotó el número de movimientos respiratorios por minuto.

Todas las mediciones metabólicas, cardíacas y respiratorias se realizaron en condiciones de inmovilidad del animal; se descartaron todos los experimentos en los cuales no se cumplió este requisito.

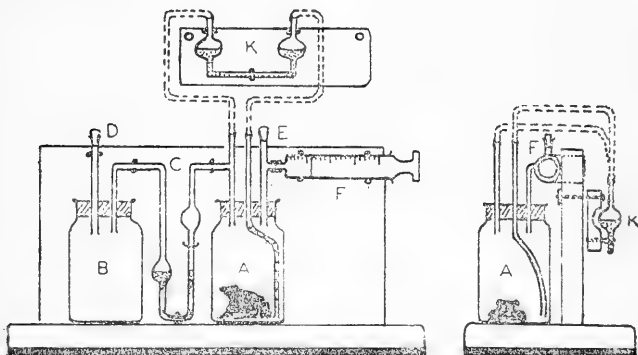


FIGURA 3

Respirómetro diferencial (igual a la Fig. 1), con dispositivo (K) para absorción del CO_2 . Vista frontal y vista lateral del respirómetro.

III. RESULTADOS EXPERIMENTALES

A) **Consumo de Oxígeno.**—En la Fig. 4 se ha representado el transcurso de una de las cuatro series de mediciones que se hicieron con cada animal. Se puede observar, que el consumo de O_2 es lineal en función del tiempo. Los volúmenes de O_2 medidos se reducen posteriormente a condiciones normales, y se

* Agradecemos al Dr. Juan Concha B., Jefe de Trabajos Prácticos del Instituto, su valiosa cooperación en estas mediciones.

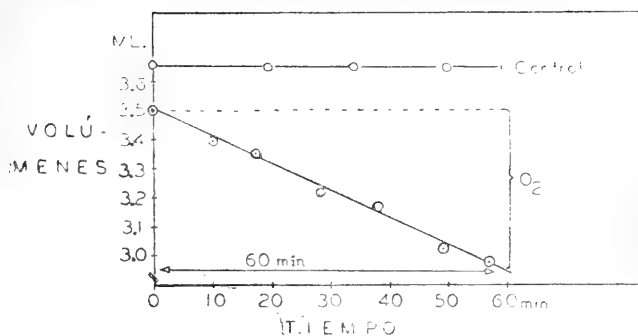


FIGURA 4

Consumo de O_2 en función del tiempo. Rana "Hyla" de 6.96 g de peso.

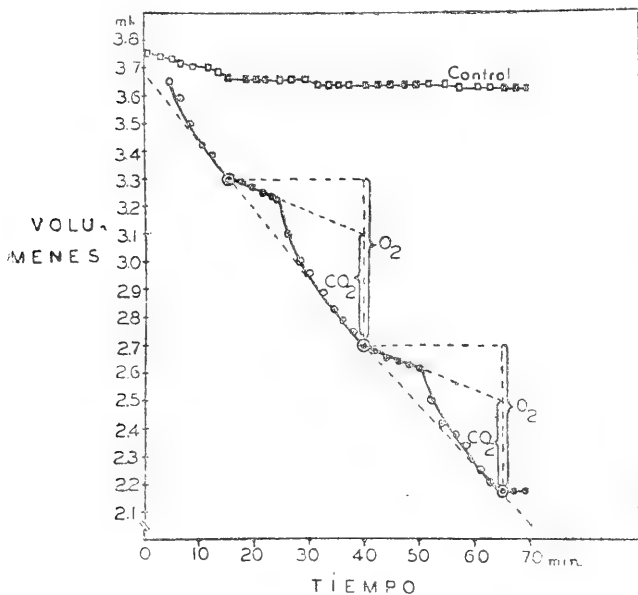


FIGURA 5

Curvas de consumo de O_2 y cociente respiratorio en función del tiempo. Los círculos y los cuadrados negros corresponden a los periodos de inmovilidad del sistema de absorción (K).

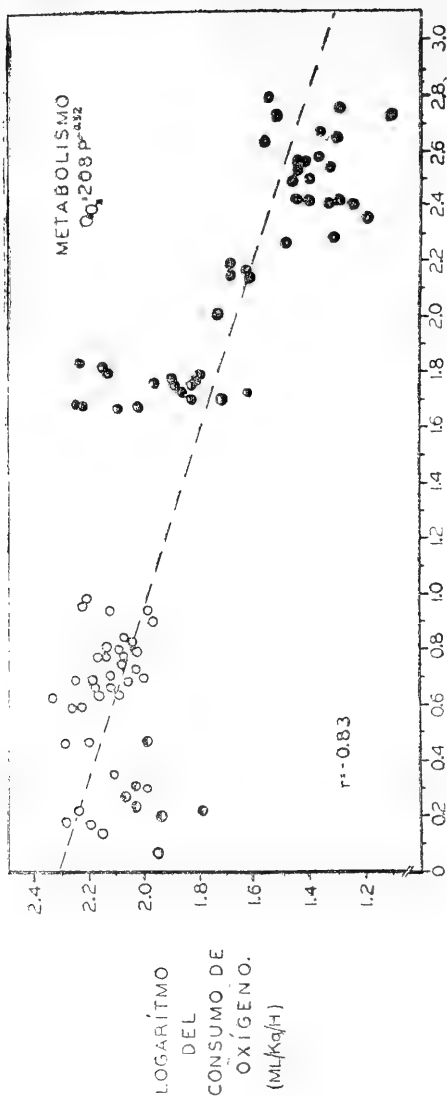


FIGURA 6

Logaritmo del consumo de O_2 (ML/Kg/H) en función del logaritmo del peso corporal (P). La línea corresponde a la ecuación teórica: $Q = 208 \cdot P^{-0.34}$.

calcula a base de ellos el metabolismo por kilogramo de peso de animal.

Un experimento de control (Fig. 4), sin el animal en el interior del respirómetro, muestra claramente la constancia de las lecturas, siempre que estas mediciones se hagan después de haber alcanzado el equilibrio térmico.

B) Cociente respiratorio (CR).—La relación entre los volúmenes de CO_2 consumidos ($\text{CR} = \text{CO}_2/\text{O}_2$) es un índice de las sustancias metabolizadas por el animal.

Al iniciar el experimento (Fig. 5) se puede observar, que hay una disminución paulatina de volumen, debido a la absorción de CO_2 y al consumo de O_2 . A los 15 minutos se deja inmóvil el sistema de absorción y se continúa con las lecturas volumétricas. Se constata un descenso progresivo, pero mucho menos marcado que en el período anterior. Esto se debe a que los volúmenes de O_2 consumidos son mayores que la cantidad de CO_2 eliminada, o sea que el cociente respiratorio (CR) es inferior a la unidad. Se continúan estas mediciones durante 10 minutos y se vuelve a poner en movimiento el sistema de absorción. Se constata de nuevo la disminución rápida de volumen, lo que indica que el CO_2 acumulado durante el período de inmovilidad es fijado por la solución de KOH. Un índice de la eficiente absorción de CO_2 es que la línea teórica del consumo de O_2 es alcanzada rápidamente por los valores experimentales, tal como acontece en el experimento representado en la Fig. 5. La relación entre los volúmenes de CO_2 (por extrapolación de la línea de valores cuando no hay absorción de CO_2) y los volúmenes de O_2 consumidos nos da el cociente respiratorio, que en el presente caso osciló entre 0.67 y 0.62.

Un experimento de control (Fig. 5), muestra la constancia de los valores; salvo un pequeño descenso inicial, que se debe a la absorción de CO_2 del aire que contiene uno de los frascos (A).

C) Consumo de Oxígeno en Función del Peso Corporal. — Una vez que la técnica de medición dió resultados concordantes, se procedió a determinar el consumo de O_2 en sapos y ranas de diverso peso corporal. El ejemplar más pequeña pesó 1.2 y el más grande 640 g. Por esta razón convenía utilizar escalas logarítmicas, tanto en las ordenadas (consumo de oxígeno en ml/Kg/H) como en las abscisas (peso del cuerpo en G).

En la Fig. 6 se encuentran representados —en escala doblemente logarítmica— los valores experimentales para los diversos poiquilotermos estudiados. Cada punto en el gráfico corresponde al promedio de cuatro mediciones consecutivas.

En vista que el presente trabajo se inició durante los meses de verano y se continuó por todo el invierno, hubo necesidad de corregir el efecto de la temperatura sobre el metabolismo de estos animales. Según Kayser⁽⁴³⁾ los poiquilotermos modifican su intensidad metabólica de acuerdo a la relación de Van't Hoff:

$$Q_{10} = \left(\frac{k_1}{k_2} \right)^{\frac{10}{t_1 - t_2}}$$

en que:

k_1 = constante a la temperatura t_1

k_2 = constante a la temperatura t_2

Todos los valores metabólicos (Ml/Kg/H) se calcularon para una temperatura de 20°C. Sin esta corrección, los consumos de O_2 de un mismo animal hubiesen resultado sumamente bajos en invierno en comparación con las cifras obtenidas en verano, dado que las diferencias de temperatura en algunos casos eran superiores a 10°C. Una elevación de la temperatura en 10°C significa para un Q_{10} de 2.0 un aumento de 100% y para un $Q_{10} = 3$, un aumento de 200%.

A pesar de la dispersión de los valores individuales (Fig 6), existe una notoria diferencia metabólica entre los animales de peso inferior a 10 g con aquéllos superiores a 100 g. La diferencia entre ambos grupos es estadísticamente muy significativa ($t = 14.05$), lo que demuestra que las diferencias metabólicas entre ambos grupos es un hecho real y no es debido al azar ($P < 0.0001$). *

A fin de saber si existía una correlación entre el logaritmo del peso del cuerpo y el logaritmo del metabolismo se calculó el valor del coeficiente de correlación (r), que resultó ser de -0.83, o sea que existe una alta correlación negativa entre ambas variables.

Del cálculo de regresión se obtuvo que el metabolismo (Q) en función del peso del cuerpo (P) se rige por la siguiente expresión logarítmica: $\log Q = 2.32 - 0.32 \log P$. La expresión antilogarítmica equivalente es igual a la fórmula heterogónica de Huxley y se puede escribir como sigue: $Q = 208 P^{-0.32}$. Esta ecuación permite calcular el consumo de oxígeno (Ml/Kg/H) para cualquier peso corporal (G).

d) Frecuencia Cardíaca en Función del Peso del Cuerpo.—De acuerdo con la "ley de similitud biológica" de Lambert y Teissier (¹⁷), debería existir una correlación entre el peso del cuerpo y la frecuencia cardíaca. Esta posible vinculación no ha sido estudiada en los poiquiloterms, sino que sólo en mamíferos y aves (Clark). ⁵ Por esta razón se determinó la frecuencia cardíaca mediante la técnica electrocardiográfica (Fig. 7) y se encontró una correlación lineal negativa ($r = -0.96$) entre el logaritmo de la frecuencia y el logaritmo del peso. El cálculo de regresión dió en este caso el siguiente resultado:

* Los cálculos estadísticos se realizaron de acuerdo con las tablas de Fisher.

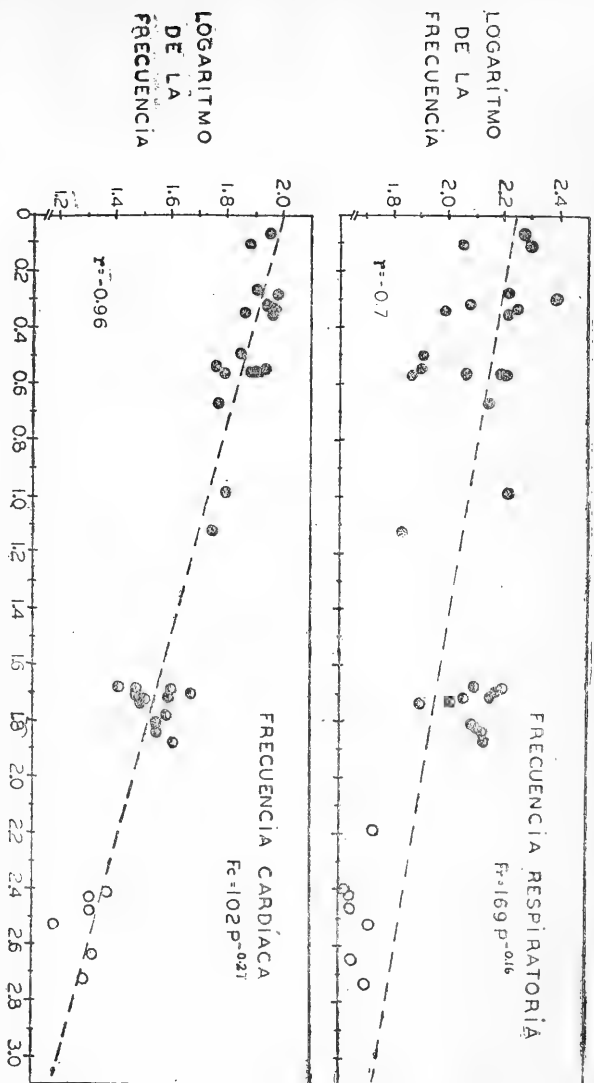


FIGURA 7

Logaritmo de la frecuencia respiratoria (por MIN.) y logaritmo de la frecuencia cardiaca (por MIN.) en función del logaritmo del peso corporal (en G). Las líneas de puntos corresponden a las ecuaciones teóricas.

$\log Y = 2.009 - 0.27 \log X$; en donde Y es la frecuencia cardíaca por minuto y X el peso del cuerpo en gramos. Expresado este mismo resultado en otra forma, resulta que la frecuencia cardíaca (F_c) está en relación con el peso del cuerpo (P) según la siguiente ecuación:

$F_c = 102 \cdot P^{-0.27}$. En otras palabras, la frecuencia cardíaca es inversamente proporcional a la raíz cuarta del peso del cuerpo. Esta relación concuerda exactamente con la fórmula que encontró Clark (⁶) para la frecuencia cardíaca de aves y mamíferos, cuando ésta se expresa en función del peso corporal.

El cálculo estadístico para los grupos extremos, o sea, si se compara la frecuencia cardíaca de los animales menores de 10 g. y los mayores de 100 g., dió una diferencia altamente significativa. ($t = 11.25$), lo que equivale a una probabilidad $P < 0.001$.

E) Frecuencia Respiratoria.—La medición de la frecuencia respiratoria en función del peso del cuerpo dió una mayor dispersión de los logaritmos de los valores individuales, que en la serie experimental anterior (Fig. 7). Por ésto el coeficiente de correlación negativa fue también menor: ($r = -0.7$). El cálculo de regresión dió como resultado la siguiente ecuación: $\log Y = 2.228 - 0.16 \log X$. Esta misma relación se puede expresar también de otra manera. La frecuencia respiratoria (Fr), varía con el peso corporal (P) según la fórmula $Fr = 169 \cdot P^{-0.16}$.

Las diferencias entre la frecuencia respiratoria de los animales pequeños (< 10 g.) y grandes (> 100 g.) son también estadísticamente significativas ($t = 11.12$), o sea que ($P < 0.001$).

DISCUSION

En el presente trabajo se demuestra que también en los poiquilotermos el metabolismo —expresado por unidad de peso— decrece al aumentar el peso de los animales, tal como sucede con los homeotermos. Este resultado es sorprendente, por cuanto los poiquilotermos no regulan la temperatura corporal a un nivel constante, sino que ellos adquieren prácticamente la misma temperatura que el ambiente que los rodea. Debido a la gran capacidad térmica de estos animales y a su escaso metabolismo, estos animales demoran mucho tiempo (en los reptiles grandes hasta 3 horas), para igualar la temperatura corporal con la del ambiente (Gunn).⁹ Por otra parte, la piel de las ranas y sapos es buena conductora del calor, y por lo tanto no se establece una gradiente de temperatura entre el interior del cuerpo y el medio externo. Por el contrario, a causa de la intensa evaporación en la superficie de la piel, la temperatura corporal es inferior a la del ambiente. Con el propósito de confirmar esta aseveración en nuestro material de experimentación, hemos hecho mediciones de la temperatura superficial y profunda en algunas ranas, que habían estado en un ambiente frío durante la noche. Para estas mediciones utilizamos

una aguja hipodérmica especial con un par termoelectrico en la punta.* El par termoelectrico se aplicó a diferentes zonas de la piel y se introdujo en plena musculatura, en la cavidad peritoneal, profundamente en la cavidad bucal y en el recto. Las temperaturas medidas resultaron ser uniformes para todo el cuerpo; sin embargo, todas ellas quedaban entre 0.5°C y 2.0°C por debajo de la temperatura ambiente.

Debido a que la termogénesis en estos animales es pequeña y la termolisis se hace sin dificultad, es obvio pensar que no puede ser la superficie corporal el factor determinante de la intensidad metabólica, máxime si se constata que la gradiente de temperatura se encuentra invertida (temperatura corporal inferior a la temperatura ambiente). Un enfoque totalmente diverso fue propuesto por Lambert y Teissier⁽¹⁷⁾, quienes publicaron en 1927 su teoría de la "similitud biológica" según la cual dos animales son biológicamente semejantes, "si son geoméricamente semejantes, si la relación de masas homólogas es igual al cubo de longitudes homólogas, si la relación de tiempos homólogos es igual a la relación de longitudes homólogas y si los rendimientos homólogos son iguales".

Si se aplica el cálculo dimensional de esta teoría es posible correlacionar la intensidad metabólica (Q) con el peso del cuerpo (P). El metabolismo por unidad de peso se rige por la siguiente ecuación: $Q = a \cdot P^{-0.33}$ o sea que Q es inversamente proporcional a la raíz cúbica del peso (P) del cuerpo. En el presente trabajo se confirma plenamente esta hipótesis derivada de la teoría de similitud de Lambert y Teissier,⁽¹⁷⁾ pues encontramos experimentalmente la siguiente expresión:

$$Q = 208 P^{-0.32}$$

Esta teoría predice, además, que para la frecuencia cardíaca y respiratoria debe regir la misma expresión ($P^{-0.33}$). Sin embargo, nosotros hemos encontrado para los poiquiloterms diferentes exponentes: $P^{-0.27}$ para la frecuencia cardíaca y $P^{-0.16}$ para la frecuencia respiratoria. El primer valor ($P^{-0.27}$) es idéntico, como hemos dicho, al encontrado por Clark⁽⁵⁾ para la frecuencia cardíaca de mamíferos y aves. Para la frecuencia respiratoria de mamíferos y aves Adolph⁽¹⁾ ha calculado un valor de $P^{-0.28}$, en tanto que nosotros encontramos para los anfibios un valor de $P^{-0.16}$. La discordancia de este resultado con

* Instrumento "Unipivot", Cambridge Inst. Co., (England), con escala total de 1.2 mV.

* La fórmula de similitud biológica utilizada en este caso es:

$$\frac{1}{2} (5\alpha + \beta + 0.95\gamma)$$

$$A = a P$$

donde A es la magnitud de la función en estudio, a un parámetro, P el peso (Kg), α el grado en que la función depende de la masa (M) β el grado en que depende de la longitud (L) y γ el grado en que depende del tiempo (T).

la teoría de la "similitud biológica" de Lambert y Teissier, (¹⁷) dió lugar a un planteamiento físico, de acuerdo con las similitudes de la Mecánica y de la Electrodinámica (Guerra y Günther) ⁶. Según esta nueva teoría de similitud, * la frecuencia puede variar entre los límites $P^{0.16}$ para la similitud mecánica y $P^{0.33}$ para la electrodinámica. El primer valor corresponde a los resultados experimentales ($P^{0.16}$), lo que indica que la frecuencia respiratoria en estos animales no está regida por los procesos metabólicos, sino que se trata de un fenómeno de orden mecánico. En los sapos, aparte de la gran importancia de la piel como lugar de intercambio gaseoso, la ventilación pulmonar se hace por un sistema de presión positiva (deglución de aire), a diferencia del sistema negativo de presiones que se observa por ejemplo en el hombre, (Prosser) ¹⁸.

En cuanto a la posibilidad de poder medir el cociente respiratorio directamente, sin dosificar el CO_2 eliminado, estimamos que la nueva metódica (Fig. 3), descrita en este trabajo, facilita enormemente estas determinaciones. El valor relativamente bajo del cociente respiratorio (0.62 a 0.67) podría estar en relación con el ayuno de los animales de experimentación ($CR = 0.7$ para el metabolismo de los lípidos). Además es posible, que se haya producido una pequeña retención de CO_2 en los períodos en que no se absorbe el CO_2 . Kayser (¹⁶) ha observado que cuando aumenta la tensión parcial del CO_2 en el aire, los sapos retienen CO_2 en el cuerpo, con lo cual se falsea el valor del cociente respiratorio, pues éste llega a ser menor que 0.7. Sin embargo, si el CO_2 llega sólo a valores inferiores al 0.6%

ESPECIE	Peso (g)	Consumo de O_2 (ml/kg/h)	Temperatura °C	Autor	Referencias
Rana	47.0	98.0	19	Liang	19
Bufo vulgaris	17.0	145.0	23		
Bufo marinus	135.0	45.5	23		
Ranas	17.8	166.3	26	Blanck	3
	40.39	107.9	26		
	68.74	99.8	26		
	87.97	85.3	26		
Rana fusca y temporaria.	40.0	45.0	17.8	Kayser	12,14
Ranas y sapos de diversas especies	1	293.0	20	Valores del presente trabajo, según la ecuación $Q = 208 P^{0.33}$	
	10	100.0	20		
	50	59.0	20		
	100	47.0	20		
	200	38.0	20		
	400	30.0	20		
	600	26.0	20		

en la atmósfera, no se modifica la reserva alcalina (Dontcheff y Kayser) ⁶. La posible retención de CO₂ debe tomarse en cuenta al trabajar con la técnica propuesta en este trabajo, razón por lo cual se recomienda utilizar cortos períodos de inmovilidad (máximo de 10 minutos) del sistema de absorción de CO₂ (véase Figs. 3 y 5) y períodos largos de absorción (15 minutos).

Con fines comparativos incluimos en el cuadro siguiente algunos resultados de mediciones de metabolismo en ranas y sapos obtenidos por otros autores, así como las cifras teóricas medias (Fig. 6), que se establecieron en el presente trabajo para una temperatura a que se hicieron las determinaciones.

Es evidente que la intensidad metabólica decrece al aumentar el peso corporal, y también se manifiesta la influencia de la temperatura, si se comparan la serie de resultados de Blank, ⁽⁴⁾ obtenidos a 26°C, con las cifras logradas en el presente trabajo, corregidas todas ellas a 20°C.

RESUMEN

1.—Se estudia el metabolismo (consumo de oxígeno) en sapos y ranas cuyo peso corporal estaba comprendido entre 1.2 y 640 g.

2.—Para la determinación del consumo de O₂ se utilizó un nuevo respirómetro volumétrico diferencial, que permite determinar directamente el consumo de oxígeno y el cociente respiratorio.

3.—El metabolismo (Q) de los poiquiloterms, expresado por unidad de peso (Kg) y por hora (H), decrece a medida que aumenta el peso corporal (P). La expresión matemática encontrada, que tiene un alto coeficiente de correlación, fue la siguiente: $Q = 208 P^{-0.32}$.

4.—Se estudió además la frecuencia cardíaca (Fc) y respiratoria (Fr), en función del peso corporal (en gramos). La frecuencia del corazón se rige por la siguiente expresión $Fc = 102 P^{-0.27}$ y la frecuencia respiratoria $Fr = 169 P^{-0.16}$.

Se discuten los resultados experimentales y se interpretan en base a las teorías de similitud biológica.

SUMMARY

1) The oxygen consumption of frogs and toads of weights ranging from 1.2 g. to 640 g., was studied.

2) A new type of differential volumetric respirometer was utilized for measuring oxygen consumption and respiratory quotient directly.

3) The standard metabolism of poikyloterms, expressed per Kg/H, decreases as the body weight increases. Metabolism and body weight are related by the following equation:

$$Q = 208 P^{-0.32}$$

4) In the poikyloterms studied, cardiac frequency (Fc) and respiratory frequency (Fr) are related by the following equations $Fc = 102 P^{-0.27}$ and $Fr = 169 P^{-0.16}$.

5) The experimental results are discussed and are interpreted in relation to the theories of biological similarity.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Adolph, E. F.—Quantitative relations in the physiological constitution of mammals. Science, 109:579, 1949.
- 2.—Benedict, F.—Vital Energetics. Publ. Carnegie Instn. N° 503, 1938.
- 3.—Blank, H.—Tiergrösse und Stoffwechsel. Pflüger's Arch., 234:310, 1934.
- 4.—Brody, S.—Bioenergetics and Growth. Reinhold Publ. Corp., N. York. 1945.
- 5.—Clark, A. J.—Comparative Physiology of the Heart. Cambridge Univ. Press, London, 1927.
- 6.—Dontcheff, L., Kayser, Ch.—Effet de concentration variées en acide carbonique de l'air atmosphérique sur le quotient respiratoire et la réserve alcaline de la grenouille. C. R. Soc. Biol., Paris, 123:815, 1936.
- 7.—Du Bois, E. F.—Basal Metabolism in Health and Disease. Baillière, Tindall & Co. London, 1936.
- 8.—Guerra, E., Günther, B.—Biological Similarities. En preparación.
- 9.—Gunn, D. L.—Body temperature in poikilothermal animals. Physiol. Rev. 17:293, 1942.
- 10.—Günther, B.—Peso del cuerpo y metabolismo. Bol. Soc. Biol., Concepción (Chile), 18:45, 1944.
- 11.—Hoesslin, H. v.—Über die Umstände die die Höhe des Grundumsatzes bestimmen. Z. Biol. 86: 569, 1927.
- 12.—Kayser, Ch.—La loi des surfaces. Revue Scientifique. 89: 267, 1951.
- 13.—Kayser, Ch.—La règle de Van't Hoff-Arrhenius et la calorification des vertèbres supérieurs non homéothermes. C. R. Soc. Phys. Biol. de France. 18:1, 1944.
- 14.—Kayser, Ch.—Le probleme de la loi des tailles et de la loi des surfaces tel qu'il apparait dans l'étude de la calorification des batraciens et des mammifères hibernants. Arch. de Physiol., 4: 361, 1950.
- 15.—Kayser, Ch.—Variations du quotient respiratoire en fonction de la tension partielle de l'anhydride carbonique chez quelques espèces poikilothermes. C. R. Soc. Biol., Paris 128:83, 1938.
- 16.—Kleiber, M.—Body size and metabolism of liver slices "in vitro". Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 48: 419, 1941.
- 17.—Lambert, R., Te'ssier, G.—Theorie de la similitude biologique. Ann. de Physiol. 3: 212, 1927.
- 18.—Prosser, C. L. (Edit.).—Comparative Animal Physiology. W. B. Saunders Co., Philadelphia. 1950. p. 220.
- 19.—Liang, Ch. M.—Gaswechseluntersuchungen an Kaltblütern. Pflüger's Arch. 234:302, 1934.
- 20.—Scholander, P. F., Claff, C. L., Andrews, J. R., Wallach, D. F.—Microvolumetric respirometry. J. Gen. Physiol. 25:275, 1951.
- 21.—Zeuthen, E.—Body size and metabolic rate in the animal kingdom with special regard to the marine micro-fauna. Trav. Lab. Carlsberg, Serie Chim. 26:17, 1947.

Efecto eritropoyético de extractos de leche de vaca *

por

I. Eskuche, F. Abarca, F. Salvatore, J. Tohá y G. Hodgson

En diversos trabajos se ha podido establecer, que existen factores humorales que regulan la eritropoyesis (1). Grant (2) ha demostrado además, que uno de estos factores eritropoyéticos se encuentra en la leche proveniente de ratas mantenidas en ambiente de baja tensión de oxígeno.

Por otra parte se sabe, que repetidas inyecciones intramusculares de ácido orótico producen reticulocitosis en ratas, (3) y que este ácido se encuentra en concentraciones notables en la leche. (4) En la leche de vaca hay entre 50 y 100γ por ml.

Estos hechos nos sugirieron la posibilidad de estudiar en primer lugar la actividad eritropoyética de la leche de animal normal (leche de vaca), y en segundo término determinar si hay alguna vinculación entre este factor lácteo y los factores presentes en el plasma y en la orina de animales anemizados, que han sido descritos anteriormente. (5) Con este fin se utilizó para extraer el factor eritropoyético de la leche la misma metodología empleada en la obtención del factor activo del plasma y de la orina. (6, 7): Además se procedió a oxigenar los extractos activos de leche para verificar si dicho principio es destruido por acción del oxígeno, como ocurre con el factor activo del plasma y de la orina.

MATERIAL Y METODO

Se usaron en total 32 conejos adultos de ambos sexos.

Se realizaron las siguientes series experimentales:

* Este trabajo se ha hecho bajo el patrocinio del Consejo de Investigación Científica (CIC) de la Universidad de Concepción.

1.—Conejos inyectados con extracto de leche fresca de vaca.
2.—Conejos inyectados con extracto de leche en polvo de vaca (NIDO).

3.—Serie A y B inyectadas con extracto de leche de vaca antes y después de oxigenación.

4.—Serie control, inyectada con solución de ClNa al 9%.

La actividad de los extractos se comprobó observando la diferente velocidad de recuperación de la hemoglobina en conejos sangrados en forma standard (sangría igual al 1% de su peso corporal) e inyectados con solución de cloruro de sodio al 9% (serie de control) o con los extractos de leche. En ambos casos el volumen inyectado correspondía a la magnitud de la sangría, o sea al 1% del peso corporal.

La determinación de la concentración de hemoglobina se efectuó por el método de Sanford y Sheard, utilizando un fotocolorímetro "Leitz" unido a un galvanómetro de cuerda de alta sensibilidad (Rubicon).

En las cuatro series experimentales efectuadas se preparon los extractos de leche de vaca de la siguiente manera:

1.—Centrifugación de la leche para separar la parte grasa (2.000 r. p. m.).

2.—Dsecación al vacío.

3.—Extracción del residuo seco obtenido en (2) con acetona, por dos horas en Baño María.

4.—Separación, por precipitación en frío, de la parte no soluble en acetona.

5.—Evaporación de la acetona (al vacío) de la solución acetónica.

6.—Disolución del residuo obtenido en (5),[†] en solución de cloruro de sodio al 9%.

En la serie inyectada con extracto de leche en polvo (NIDO) no fueron necesarias las etapas, (1) y (2).

La oxigenación del extracto final (6), se realizó haciendo burbujar oxígeno, por tres minutos, a la temperatura ambiente.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

La recuperación de la hemoglobina en los conejos inyectados con extractos acetónicos de leche fresca de vaca o de leche en polvo fue significativamente mayor que en la serie de control, inyectada con solución de cloruro de sodio al 9%. Los valores correspondientes se encuentran en la Tabla I, en donde puede apreciarse que para los días 4°, 6° y 8° post-sangría, las diferencias con la serie de control son altamente significativas. La hemoglobina está expresada en porcentaje con respecto a los valores normales pre-sangría.

TABLA I

Experimento	Nº de conejos	Valores de la recuperación de la Hb (%) después de una sangría standard.				Probabilidad estadística de la actividad eritropoyética comparada con la serie de control. (Test de t).			
		días				días			
		2º	4º	6º	8º	2º	4º	6º	8º
Serie de control (CINa 9%)	14	78.6	80.7	86.6	90.9	—	—	—	—
Leche fresca de vaca	4	86.03	92.23	92.90	93.0	T 4.4 P <0.001	6.62 <0.001	4.5 <0.001	1.4 0.2-0.1
Leche en polvo de vaca (NIDO).	5	80.23	90.98	101.82	102.0	T 0.99 P 0.4-0.3	2.98 0.01 0.001	2.28 0.05-0.02	2.47 0.05-0.02

En la Tabla II se indican los valores de recuperación de hemoglobina (%) de dos series inyectadas con extractos de leche fresca de vaca, antes y después de oxigenar. En estas series no se observaron diferencias significativas.

TABLA II

Experimento	Nº de conejos	Valores de recuperación de la Hb (%) después de una sangría standard.			
		Días			
		2º	4º	6º	8º
Leche de vaca	4	87.37	87.72	95.33	97.07
Leche oxigenada de vaca	5	86.36	86.54	94.03	95.03
Probabilidad estadística de la diferencia de actividad en ambas series.		T 0.23	0.23	0.25	0.32
		P 0.9-0.8	0.9-0.8	0.9-0.8	0.8-0.7

DISCUSION

De acuerdo con los resultados experimentales descritos podemos deducir lo siguiente:

a) Que en la leche de vaca —fresca o en polvo— se encuentra un principio capaz de acelerar la recuperación de la hemoglobina en los conejos sangrados; b) que este principio, al igual que el principio activo presente en el plasma y en la orina de conejos anemizados, puede extraerse con acetona;

c) a diferencia de éstos, la oxigenación a temperatura ambiente no altera el principio lácteo en forma significativa. Este hecho nos hace pensar que los principios lácteos y los presentes en la orina y en la sangre de animales anemizados no sean similares. La solubilidad del factor lácteo en acetona, a pH neutro, plantea la duda de su identidad con el ácido orótico o con la hormona eritropoyética hipofisiaria descrita por Contopoulos y cols. (*).

RESUMEN

1.—Se describe un efecto acelerador del extracto acetónico de leche de vaca sobre la recuperación de la hemoglobina en conejos sangrados.

2.—Se demuestra que este principio no es inactivado por la oxigenación.

3.—Se discuten los resultados experimentales obtenidos con los extractos de leche en relación con otros factores humorales de acción eritropoyética.

SUMMARY

1.—The accelerating effect of acetone extracts of dried milk on hemoglobin regeneration is described.

2.—Exposure to oxygen does not affect the activity of the milk extracts.

3.—The effects of the milk extracts are discussed in relation to those of other erythropoietic factors.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Grant, W. C., Root, W. S.—Fundamental stimulus for erythropoiesis. *Physiol Rev.*, **32**:449, 1952.
- 2.—Grant, W. C.—Influence of anoxia of a lactating rat on the blood of normal baby rats. *Amer. J. Physiol.*, **171**:728, 1952.
- 3.—Kinoshita, T.—Orotic acid as one of the growth factor of mice. *Nature (London)* **172**:914, 1953.
- 4.—Hallanger, L. E., Laakso, J. W., Schultze, M. O.—Orotic acid in milk, *J. Biol. Chem.* **202**:83, 1953.
- 5.—Hodgson, G., Tohá, J.—The erythropoietic effect of urine and plasma of repeatedly bled rabbits. *Blood*, **9**:299, 1954.
- 6.—Tohá, J., Eskuche, I., Abarca, F., Salvatore, F., Hodgson, G.—Some chemical properties of a plasma factor accelerating haemoglobin recovery in bled rabbits. En prensa.
- 7.—Salvatore, F., Abarca, F., Eskuche, I., Tohá, J., Hodgson, G.—Some chemical properties of a urinary factor accelerating hemoglobin recovery in bled rabbits. En prensa.
- 8.—Contopoulos, A. N., van Dyke, D. C., Simpson, M. E., García, J. F., Huff, R. L., Williams, B. S., Evans, H. M.—Increase in circulating red cell volume after oral administration of pituitary anterior lobe. *Blood*, **8**:131, 1953.

Estudio del efecto eritropoyético de sangre de vacuno incubada a baja tensión de oxígeno *

(Con ocho Tablas)

por

F. Abarca, I. Eskuche, F. Salvatore, J. Tohá, G. Hodgson

Diversos trabajos publicados por Bonsdorff, ⁽¹⁻²⁾ establecen que hay formación de principios eritropoyéticos en la sangre incubada a baja tensión de oxígeno. Otros autores, ⁽³⁾ han negado esta posibilidad.

Por otra parte, estudios realizados en el hombre por Bonsdorff y Selest ⁽⁴⁾ quienes ligaron por espacio de una hora una de las extremidades inferiores con el propósito de impedir el retorno venoso, han logrado demostrar una estimulación eritropoyética, probablemente de origen humoral.

Cabe destacar, además, que numerosos trabajos realizados en este Instituto, ⁽⁵⁻⁶⁻⁷⁾ establecieron la existencia de factores eritropoyéticos en el plasma y en la orina de animales anemizados.

Con el propósito de estudiar la formación "in vitro" de principios eritropoyéticos por incubación de la sangre, y además de verificar posibles semejanzas o diferencias entre este principio y los factores eritropoyéticos del plasma y de la orina de animales anemizados, se proyectaron los siguientes experimentos:

1.—Incubación a baja tensión de oxígeno y a diferente temperatura (20-37°C) de sangre de vacuno citratada o heparinizada.

2.—Acción del oxígeno sobre extractos activos obtenidos de las proteínas plasmáticas de sangre incubada. Esta última experiencia se realizó basándose en que los factores eritropoyéticos de plasma y orina son inactivados ⁽³⁾ por acción del oxígeno.

* Esta investigación ha sido realizada bajo los auspicios del Consejo de Investigación Científica (CIC) de la Universidad de Concepción.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 47 conejos adultos de ambos sexos.

Cada serie experimental, realizada con la misma sangre de vacuno, * consta de los siguientes grupos:

1.—Conejos inyectados con extractos acetónicos de las proteínas plasmáticas de sangre de vacuno **citrata** e incubada a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg. de tensión de oxígeno), durante cuatro horas y a la **temperatura de 37°C.**

2.—Conejos inyectados con extractos acetónicos de las proteínas plasmáticas de sangre de vacuno **heparinizada** e incubada a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg.), durante cuatro horas y a 20°C de temperatura.

3.—Conejos inyectados con extractos acetónicos de las proteínas plasmáticas de sangre de vacuno **heparinizada** e incubada a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg.), durante cuatro horas y a 37°C de temperatura.

4.—Conejos inyectados con extractos acetónicos de las proteínas plasmáticas de sangre de vacuno **heparinizada** e incubada a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg.), durante cuatro horas y a 20°C de temperatura.

5.—Conejos inyectados con solución de cloruro de sodio al 9% (serie de control).

A partir de otra sangre de vacuno, se prepararon extractos en los que se estudió la sensibilidad frente al oxígeno de la substancia activa. Para ello se inyectaron tres series de animales.

La **primera serie**, fue inyectada con extractos acetónicos de proteínas plasmáticas de sangre de vacuno **citrada** e incubada a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg. de tensión de oxígeno), durante cuatro horas y a 20°C de temperatura.

La **segunda serie**, fue inyectada con el mismo extracto de la serie anterior previo tratamiento con oxígeno en caliente durante una hora.

La **tercera serie** (serie de control), fue inyectada con un extracto acetónico de la misma sangre, pero sin incubar.

La actividad de los extractos se controló comparando la diferente velocidad de recuperación de la hemoglobina en conejos sangrados en forma standard (sangría equivalente al 1% del peso corporal), e inyectados con extractos de proteínas plasmáticas con la de los inyectados con solución de cloruro de sodio al 9% (serie de control). En todos los casos el volumen inyectado correspondió exactamente al volumen de la sangría.

La determinación de la concentración de hemoglobina se efectuó al estado de oxihemoglobina por el método fotolorímetro de Sandford y Sheard citado por Hawk. (6)

Los extractos de las proteínas plasmáticas se prepararon a partir de sangre fresca de vacuno, tomada en condiciones asépticas, citrada o heparinizada.

Como anticoagulante se utilizó citrato de sodio puro al 3,8%

* Agradecemos la gentil cooperación prestada por el Veterinario Jefe del Matadero Municipal, Dr. Jesús García Vinuesa B.

en concentraciones de 1 parte de citrato por 10 partes de sangre. La heparina Abbott se empleó en concentraciones de 10 mg. por litro de sangre.

Por cada litro de sangre se agregaron 100.000 unidades de penicilina con el objeto de impedir el desarrollo microbiano.

La preparación de los extractos se hizo de acuerdo con el siguiente procedimiento:

1.—Separación del plasma por centrifugación (2.500 revoluciones, durante 15 minutos).

2.—Precipitación de las proteínas plasmáticas a pH 5.5 y a 100°C de temperatura.

3.—Extracción en Soxhlet de las proteínas plasmáticas mediante acetona, durante dos horas.

4.—Evaporación del extracto acetónico y disolución en cloruro de sodio al 9%.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

En la Tabla I se encuentran detallados los resultados experimentales de las cinco series siguientes:

1.—Extrato acetónico de proteínas plasmáticas de sangre de vacuno citratada e incubada a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg. de tensión de oxígeno), durante cuatro horas y a 37°C de temperatura.

TABLA I

Series	Nº de Conejos	Valores de la recuperación de la Hb (%), después de una sangría standard.				Probabilidad estadística de la actividad eritropoyética comparada con la serie de control (Test de t)			
		días				días			
		2º	4º	6º	8º	2º	4º	6º	8º
Serie Control (CINa 9%)	14	73.6	80.7	86.6	90.9	—	—	—	—
Extracto acetónico, sangre citratada incubada a 37°C.	G	84.34	86.71	85.31	96.61	T 2.76	3.58	0.675	2.79
						P 0.02-0.01	0.01-0.001	0.6-0.5	0.02-0.01
Extractos acetónicos, sangre citrada incubada a 20°C	5	81.96	89.14	91.96	107.22	T 1.91	4.87	2.3	6.66
						P 0.1-0.05	< 0.001	0.05-0.02	< 0.001
Extractos acetónicos, sangre heparinizada incubada a 37° C.	6	89.71	92.67	91.78	101.66	T 7.8	8.09	2.8	4.34
						P < 0.001	< 0.001	0.02-0.01	< 0.001
Extractos acetónicos, sangre heparinizada incubada a 20°C.	G	77.76	84.82	93.54	104.88	T 0.22	1.61	3.43	6.92
						P 0.9-0.8	0.2-0.1	0.01-0.001	< 0.001

2.—Extracto acetónico de proteínas plasmáticas de sangre de vacuno citratada e incubada a baja a tensión de oxígeno (40 mm. de Hg.), durante cuatro horas y a 20°C de temperatura.

3.—Extracto acetónico de proteínas plasmáticas de sangre de vacuno heparinizada e incubada a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg.), durante cuatro horas y a 37°C de temperatura.

4.—Extracto acetónico de proteínas plasmáticas de sangre de vacuno heparinizada e incubada a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg.), durante cuatro horas y a 20°C de temperatura.

5.—Serie de control.

Puede apreciarse que la diferencia entre estos valores y los de la serie de control (cloruro de sodio al 9%), para los días 2-4-6-8 después de la sangría, son altamente significativos.

La hemoglobina (Hb) se ha expresado siempre en forma de porcentaje con respecto a los valores normales pre-sangría.

A) Influencia de la temperatura de incubación sobre la actividad de los extractos.

En la Tabla II se compara el efecto del extracto acetónico de proteínas plasmáticas de sangre de vacuno citratada, incubada a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg. de tensión de oxígeno), durante cuatro horas y a 37°C de temperatura, con el de otro extracto de la misma sangre obtenido en idénticas condiciones que el anterior, pero incubada a 20°C.

El cálculo estadístico demostró que no existen diferencias significativas en ninguno de los días comparados.

En la Tabla III se compara el efecto del extracto acetónico de proteínas plasmáticas de sangre de vacuno heparinizada incubada a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg.), durante cuatro horas y a 37°C, con el de otro extracto de la misma sangre, obtenido en idénticas condiciones que el anterior, pero incubado a 20°C de temperatura.

La probabilidad estadística no resultó significativa en ninguno de los días comparados.

TABLA II

Serie	Nº de Conejos	Valores de la recuperación de la Hb (%), después de una sangría standard.				Probabilidad estadística de la diferencia de actividad de ambas series.			
		días				días			
		2º	4º	6º	8º	2º	4º	6º	8º
Extracto acetónico, sangría citrada, incubada a 37°C.	6	84.34	86.71	85.31	96.61	—	—	—	—
Extracto acetónico, sangre citratada, incubada a 20°C	5	81.96	89.14	91.96	107.22	T 0.71 P 0.5	0.76 0.5-0.4	1.47 0.2-0.1	2.02 0.1-0.05

TABLA III

		Valores de la recuperación de la Hb (%), después de una sangría standard.				Probabilidad estadística de la diferencia de actividad de ambas series.			
Series	Nº de Conejos	días				días			
		2º	4º	6º	8º	2º	4º	6º	8º
Extracto acetónico heparinizado, sangre incubada a 37°C.	6	89.71	92.67	91.78	101.66	—	—	—	—
Extracto acetónico, sangre heparinizada, incubada a 20°C.	6	77.76	84.82	93.54	104.88	T 0.328	1.90	0.46	0.66
						P 0.8	0.1-0.05	0.7	0.6
						0.7		0.6	0.5

TABLA IV

		Valores de la recuperación de la Hb (%), después de una sangría standard.				Probabilidad estadística de la diferencia de actividad de ambas series.			
Serie	Nº de Conejos	días				días			
		2º	4º	6º	8º	2º	4º	6º	8º
Extracto acetónico, sangre heparinizada, incubada a 37°C.	6	89.71	92.67	91.78	101.66	—	—	—	—
Extracto acetónico, sangre citratada incubada a 37°C.	6	84.34	86.71	85.31	96.61	T 1.91	2.16	1.73	1.03
						P 0.1-0.05	0.1-0.05	0.2-0.1	0.4-0.3

B) Influencia del anticoagulante sobre la actividad de los extractos.

En la Tabla IV se compara el efecto del extracto acetónico de proteínas plasmáticas de sangre de vacuno heparinizada e incubada a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg.), durante cuatro horas y a 37°C de temperatura, con el de otro extracto de la misma sangre obtenido en idénticas condiciones que el anterior, pero utilizando como anticoagulante el citrato de sodio.

La probabilidad estadística no señaló diferencias significativas en ninguno de los días comparados.

En la Tabla V se compara el efecto del extracto acetónico de proteínas plasmáticas de sangre de vacuno heparinizada e incubada a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg), durante cuatro horas y a 20°C de temperatura, con el de otro extracto de la misma sangre obtenido en idénticas condiciones que el anterior, pero utilizando como anticoagulante el citrato de sodio. La probabilidad estadística no señaló diferencias significativas en ninguno de los días comparados.

TABLA V

Serie	Nº de Conejos	Valores de la recuperación de la Hb (%), después de una sangría standard.				Probabilidad estadística de la diferencia de actividad de ambas series.			
		días				días			
		2º	4º	6º	8º	2º	4º	6º	8º
Extracto acetónico, sangre heparinizada incubada a 20°C.	0	77.76	84.82	93.54	104.48	—	—	—	—
Extracto acetónico, sangre citratada incubada a 20°C.	5	81.96	89.14	91.96	107.22	T 0.658 P 0.6-0.5	0.937 0.4-0.3	0.344 0.8-0.7	0.49 0.7-0.6

TABLA VI

Serie	Nº de Conejos	Valores de la recuperación de la Hb (%), después de una sangría standard.				Probabilidad estadística de la actividad eritropoyética comparada con la serie de control (Test de t)			
		días				días			
		2º	4º	6º	8º	2º	4º	6º	8º
Extracto acetónico, sangre vacuno, no incubada (S. Control)	4	71.57	72.18	83.95	93	—	—	—	—
Extracto acetónico, sangre vacuno incubada.	5	78.95	82.64	88.80	91.76	T 1.38 P 0.3- P 0.2	2.27 0.1- 0.05	1.16 0.3- 0.2	0.30 0.8- 0.7
Extracto acetónico, sangre vacuno, incubada y oxigenada.	5	78.85	85.80	93.17	94.23	T 1.54 0.2 0.1	2.94 0.05- 0.02	2.45 0.05- 0.02	0.25 0.9- 0.8

C) Influencia de la oxigenación sobre la actividad de los extractos.

En la Tabla VI se aprecian diferencias significativas en los días cuatro y seis, entre la actividad de los extractos obtenidos

TABLA VII

		Valores de la recuperación de la Hb (%), después de una sangría standard.				Probabilidad estadística de la diferencia de actividad de ambas series.			
Series	Nº de Conejos	días				días			
		2º	4º	6º	8º	2º	4º	6º	8º
Extracto acetónico, sangre vacuno no incubada.	5	83.11	90.36	92.92	97.79	—	—	—	—
Extracto acetónico, sangre de vacuno incubada y oxigenada	5	92.55	100.45	105.89	110.61	T 3.48 P 0.02 0.01	5.42 < 0.001	4.72 0.001	4.45 0.1 0.001

TABLA VIII

		Valores de la recuperación de la Hb (%), después de una sangría standard.				Probabilidad estadística de la diferencia de actividad de ambas series.			
Series	Conejos Nº de	días				días			
		2º	4º	6º	8º	2º	4º	6º	8º
Extracto acetónico, sangre vacuno incubada	5	78.95	82.64	88.80	91.76	—	—	—	—
Extracto acetónico sangre vacuno incubada y oxigenada	5	78.85	85.80	93.17	94.33	T 0.033 P > 0.9	1.59 0.2 0.1	1.64 0.2 0.1	0.59 0.6 0.5

de sangre antes de incubar y después de incubada y sometida a la acción del oxígeno.

En un nuevo experimento (Tabla VII) similar al anterior, pero empleando sangre de otro vacuno, se comprobaron diferencias altamente significativas para los días 2-4-6 y 8, lo que demostró una mayor actividad del extracto después de la incubación y oxigenación.

En la Tabla VIII se compara la actividad del extracto acetónico de sangre de vacuno incubada, con extracto acetónico de la misma sangre incubada y sometida a la acción del oxígeno.

No se aprecian diferencias significativas en ninguno de los días comparados.

DISCUSION

De acuerdo con los resultados experimentales descritos se puede afirmar, que en la incubación de la sangre de vacuno a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg.), se producen factores que activan la producción de hemoglobina y que es posible extraer con acetona desde las proteínas plasmáticas.

No se encuentran diferencias significativas en la actividad de los extractos de sangre citratada o heparinizada, pudiendo agregarse que la incubación a diferente temperatura (20-37°C), tampoco señala estadísticamente diferente actividad. Este último hecho permite afirmar que la activación observada en la sangre incubada probablemente no es producida por un mecanismo de acción fermentativa.

Los extractos oxigenados, contrariamente a lo observado en los preparados de eritropoyetina de animal anemizado, no pierden actividad. Estos datos, estadísticamente significativos nos permiten afirmar que ambos productos eritropoyéticos son diferentes.

Nos parece poco probable, que este factor eritropoyético obtenido de la incubación de sangre de vacuno, guarde relación con la vitamina B₁₂, el ácido fólico o folínico y la piridoxina, por cuanto nuestros animales han sido alimentados durante varios meses con dieta enriquecida; por otra parte la cantidad de vitamina B₁₂ presente en el plasma o en la sangre de conejo como lo señala Rosenthal,⁽⁹⁾ es más o menos 100 veces superior a la de otros mamíferos, como el carnero, el perro, etc.

Además, en otros trabajos, ⁽¹⁰⁻¹¹⁾ se ha comprobado que la vitamina B₁₂ (dosis de 2.5 mg.) o el ácido fólico (dosis de 15 mg.), no modifican la reticulocitosis producida en conejos san- grados en forma standard.

La posibilidad de que el factor hemático en estudio esté relacionado con la hormona eritropoyética hipofisiaria, descrita por Contopoulos y col. ⁽¹²⁾ es discutible; en todo caso no se ha descrito un mecanismo de activación de esta hormona por anoxia.

Por último, de acuerdo con la hipótesis de Verzar, ⁽¹³⁾ se podría pensar que la hemólisis de la sangre incubada, favorece la aparición del efecto eritropoyético; pero esta hipótesis no ha sido confirmada. Sólo trabajos posteriores podrán dilucidar este problema.

RESUMEN

1.—Se demuestra que en la sangre de vacuno citratada o heparinizada, incubada por cuatro horas a baja tensión de oxígeno (40 mm. de Hg.), a temperatura de 20°C y de 37°C, aparecen

uno o más factores que aceleran la velocidad de recuperación de la hemoglobina en los conejos. Este factor se puede extraer de las proteínas plasmáticas de la sangre incubada mediante la acetona.

2.—No se comprobaron diferencias significativas entre los extractos de sangre incubada cuando se usó heparina o citrato de sodio como anticoagulantes, o se incubó a diferentes temperaturas (20 o 37°C).

3.—La oxigenación del extracto durante una hora en caliente no inactiva este factor eritropoyético.

4.—Se discute la relación de este factor con otras sustancias eritropoyéticas conocidas.

SUMMARY

1) After incubation of bovine blood at 20 or 37°C in an atmosphere with 40 mm. Hg. of oxygen tension there appears a factor (or factors) which accelerates haemoglobin recovery in bled rabbits. This factor can be obtained by acetone extraction of the bovine plasma proteins.

2) No difference was noted between the effects of bovine blood incubated, using sodium citrate or heparin as anticoagulants. The bloods incubated at 20 or 37°C showed the same activity.

3) Exposure to oxygen does not affect the activity of the extracts.

4) The effects of incubated bovine blood on haemoglobin recovery are discussed in relation to similar effects produced by other erythropoietic substances.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Bonsdorff, E.—Artificially induced local anoxaemia in the treatment of children's anaemia. *Acta Physiol. Scand.* 16: Suppl. 53:8, 1948.
- 2.—Bonsdorff, E. and Jalavisto, E.—A humoral mechanism in anoxic erythrocytosis. *Acta Physiol. Scand.* 16: 150, 1948.
- 3.—Grant, W. C., Root, W. S.—Fundamentals stimulus for erythropoiesis. *Physiol. Rev.*, 32:449, 1952.
- 4.—Bonsdorff, E. and Seleste, E.—On the humoral mechanism in anoxic polycythemia. *Acta paediat.* 37:441, 1949.
- 5.—Hodgson, G., Tohá, J.—The erythropoietic effect of urine and plasma of repeatedly bled rabbits. *Blood*, 9:299, 1954.
- 6.—Tohá, J., Eskuche, I., Abarca, F., Salvatore, F., Hodgson, G.—Some chemical properties of a plasma factor accelerating hemoglobin recovery in bled rabbits. *En prensa*.
- 7.—Salvatore, F., Abarca, F., Eskuche, I., Tohá, J., Hodgson, G.—Some chemical properties of urinary factor accelerating hemoglobin recovery in bled rabbits. *En prensa*.
- 8.—Hawk, P. B., Oser, B. L., Summerson, W. H.—Practical Physiological Chemistry. XII Ed. The Blakistone Co. 1947.

- 9.—Rosenthal, H. L., Brown, Ch. L.—Vitamin B₁₂ activity of plasma and whole blood from various animals. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 86: 117, 1954.
- 10.—Hodgson, G., Tohá, J., Quappe, O.—Efecto de la vitamina B₁₂, del ácido fólico del plasma de conejo normal y anemizado sobre la respuesta reticulocitaria de conejos sangrados. *Bol. Soc. Biol. Concepción.* 27:57, 1952.
- 11.—Couch, J. R., Olcese, Witten, G., Colby, R. W.—Vitamin B₁₂ content of blood from various species. *Amer. J. Physiol.* 163:77, 1950.
- 12.—Contopoulos, A. N., van Dyke, D. C., Simpson, M. E., García, J. F., Huff, R. L., Williams, B. S., Evans, H. M.—Increase in circulating red cell volume after oral administration of pituitary anterior lobe. *Blood*, 8:131, 1953.
- 13.—Verzar, F.—Schweiz. med. Wehnschr. 29:1945, cit. por Grant, W. C., Root, W. S. Fundamentals stimulus for erythropoiesis. *Physiol. Rev.* 32:449, 1952.

INSTITUTO DE MATEMATICA

Director: Prof. E. Guerra

INSTITUTO DE FISILOGIA

Director: Prof. Dr. B. Günther

Universidad de Concepción

Similitud mecánica y electrodinámica en Biología

por

E. Guerra y B. Günther

El objeto de la presente comunicación es dar cuenta de la posible aplicación en Biología de las reglas de similitud que en las construcciones mecánicas y electrodinámicas se utilizan para deducir de las condiciones de funcionamiento de un modelo las características físicas que deberá poseer cualquier construcción similar de dimensiones proporcionales.

Toda magnitud física (Q) puede expresarse de acuerdo con la nomenclatura de Maxwell; según la cual $[Q] = M^{\alpha} L^{\beta} T^{\gamma}$, siendo M la unidad de masa, L de longitud y T de tiempo. Para calcular esta misma magnitud cuando las unidades se alteran basta conocer las razones entre las unidades de longitud ($L/l = \lambda$), de tiempo; ($T/t = \tau$) y de masa $M/m = \mu$. La magnitud original se multiplica por el "coeficiente de reducción" para obtener la nueva magnitud. Dicho coeficiente de reducción es igual a: $\chi = \mu^{\alpha} \lambda^{\beta} \tau^{\gamma}$

Este criterio de similitud se utiliza también en la construcción de modelos mecánicos, si se considera que los coeficientes de reducción de las unidades de masa, longitud y tiempo son las razones en que estas mismas dimensiones varían de un modelo a otro. Como lo estableció Newton para los modelos mecánicos, las razones μ , λ , τ están relacionadas entre sí, según las siguientes igualdades $\mu = \lambda^3$ y $\lambda \tau^{-2} = 1.0$.

La primera relación presupone que la densidad de los modelos permanece constante y la segunda igualdad es una consecuencia de la constancia de la gravitación. Por lo tanto, cualquier magnitud física (q), característica de un modelo y que se expresa como $[q] = M^{\alpha} L^{\beta} T^{\gamma}$, puede ser calculada para el sistema definitivo, si (q) es multiplicado por el factor de reducción $\chi^{\alpha + \beta + \gamma}$. En la "similitud mecánica" el valor correspondiente de $[Q]$ se obtiene de la siguiente manera:

$$Q = \lambda^{\alpha} + \beta + \gamma \cdot q \quad (1)$$

Un razonamiento semejante se puede aplicar en la electrodinámica, lo que conduce a una regla de similitud del tipo anterior. Sin embargo, la similitud electrodinámica no implica las mismas relaciones dimensionales que la regla de Newton, desde que la gravitación carece de influencia en los fenómenos electrodinámicos. En la similitud electrodinámica las relaciones entre las razones μ , λ y τ son las siguientes: $\mu = \lambda^3$ y $\lambda \tau^{-1} = 1.0$. La primera igualdad presume que la densidad permanece constante, y la segunda es una consecuencia de la constancia del factor utilizado para lograr la uniformidad dimensional en todas las ecuaciones electrodinámicas. Este factor es $1/\epsilon \cdot \mu = v$, donde $[\epsilon]$ representa a la constante dieléctrica del medio, $[\mu]$ su permeabilidad magnética y v la velocidad de propagación de las ondas electromagnéticas. Si e es una magnitud electrodinámica característica del modelo y E la del sistema definitivo, entonces:

$$E = \lambda^{\alpha} + \beta + \gamma \cdot e \quad (2)$$

Es evidente que a los seres vivos no pueden aplicarse estas reglas de similitud aisladamente, debido a que algunas funciones fisiológicas están regidas principalmente por la mecánica, otras por la electrodinámica, y la mayoría por ambas a la vez. Así por ejemplo, las funciones metabólicas son de carácter electrodinámico, en tanto que la actividad muscular —en su aspecto mecánico— se ejerce en contra de la gravitación.

Basándonos en las consideraciones anteriormente expuestas, y dada la naturaleza universal de los principios de la mecánica y de la electrodinámica clásica, postulamos para los seres vivos:

- 1.º—que ellos deben obedecer a las reglas de la similitud mecánica y electrodinámica;
- 2.º—que la densidad y la naturaleza del material de que están contruidos son constantes; y
- 3.—que toda similitud biológica deberá tener un factor de reducción λ^x , cuyo exponente (x) estará comprendido entre los coeficientes de reducción de los sistemas mecánico y electrodinámico.

De acuerdo con estos postulados las similitudes biológicas tendrán factores de reducción de la forma $\lambda^{\alpha} + \beta + \gamma'$, en que γ' estará comprendido entre $\gamma/2$ y γ . Esto significa, que la única diferencia entre los factores de reducción de los tres tipos de similitud reside en el exponente de la dimensión tiempo (T).

Si se considera ahora que el peso (P) es numéricamente igual a (M), y asumiendo que el modelo de referencia tiene un peso (p) igual a la unidad (1 Kg.), se desprende que $P = \lambda^{\gamma}$ y por lo tanto $\lambda = P^{1/\gamma}$.

En vista que la densidad en los seres vivos es prácticamente constante y cercana a la unidad, tendremos que la fórmula de similitud biológica para una función determinada podrá expresarse de la siguiente manera:

$$A = a P^{1/3} (3^{\alpha} + \beta + \gamma') \quad (3)$$

La ecuación anterior (3) corresponde exactamente a la fórmula de crecimiento de Huxley (1924), que habitualmente se escribe $Y = aX^b$. Esta fórmula ha sido utilizada ampliamente en Biología para expresar funciones y pesos de los órganos (Y) en relación con el peso corporal (X). Al relacionar ambas expresiones matemáticas se tiene que el exponente (b) de la fórmula de Huxley es igual a $1/3 (3^{\alpha} + \beta + \gamma')$. De acuerdo con la presente teoría, el valor de b para cada magnitud biológica $[a] = M^{\alpha} L^{\beta} T^{\gamma}$ quedará comprendido entre los respectivos valores de la similitud mecánica y electrodinámica. En cuanto al parámetro (a) de la fórmula de Huxley, éste será igual al valor que la función estudiada tiene para el modelo cuyo peso sea igual a la unidad (1 Kg.). Además los parámetros a son característicos para cada modelo y sirven para definirlo.

La aplicación de la fórmula (3) a los procesos biológicos que dependen únicamente del tiempo ($\alpha = \beta = 0$) conduce a la relación siguiente: $A = a P^{\gamma'/3}$. De los numerosos trabajos acerca de la frecuencia (F) y de los períodos (T) de las funciones biológicas —expresadas según la fórmula de Huxley— se desprende, que las frecuencias (F) tienen exponentes del peso (P) que varían entre -0.27 y -0.33; en tanto que los períodos (T) fluctúan entre 0.27 y 0.33. El valor más probable, tomando en cuenta razones de orden metabólico, está alrededor de ± 0.31 , de donde γ' sería igual a 0.93γ . Provisoriamente, mientras no existan estadísticas más completas para los diversos animales, podríamos expresar el coeficiente de reducción de las similitudes biológicas, ligadas exclusivamente al factor tiempo, como sigue:

$$A = a P^{1/3(0.93\gamma)} = a P^{0.31\gamma} \quad (4)$$

Si en la fórmula (3) el valor de γ' es reemplazado por 0.93γ se obtiene una "similitud biológica" que en la práctica es válida para la gran mayoría de las funciones:

$$A = a P^{1/3(3^{\alpha} + \beta + 0.93\gamma)} \quad (5)$$

La Tabla N° 1 muestra la aplicación de la teoría de similitud a varias magnitudes físicas, que se expresan todas en función del peso corporal (P). Como un ejemplo de la utilización de la fórmula (5) a una determinada función biológica deseáramos mencionar que el volumen-minuto (débito cardíaco o respiratorio) es una función que varía según $P^{0.69}$, que el metabolismo basal (potencia) crece según $P^{0.735}$, y que las frecuencias (cardíacas o respiratorias) disminuyen según $P^{-0.31}$. Sin embargo, la fórmula (5) no debe aplicarse indiscriminadamente, porque hemos encontrado varios casos en que el exponente del peso (P) difería del valor calculado utilizando la relación $\gamma' = 0.93\gamma$; en todo caso los exponentes encontrados estaban comprendidos entre $\gamma/3$ y γ . (1)

TABLA N° 1

**Cálculo de los exponentes de los coeficientes de reducción en
función del peso (P) de las similitudes mecánicas,
electrodinámica y biológica.**

Magnitudes físicas	Dimensiones			Mecánica	Electro- dinámica	Biológica
	M α	L β	T γ	$\frac{1}{3}(3\alpha + \beta + \gamma/2)$	$\frac{1}{3}(3\alpha + \beta + \gamma)$	$\frac{1}{3}(3\alpha + \beta + 0.93\gamma)$
Aceleración	0	1	-2	0.00	-0.33	-0.29
Acción	1	2	-1	1.50	1.33	1.36
Area	0	2	0	0.66	0.66	0.66
Densidad	1	-3	0	0.00	0.00	0.00
Coefficiente de difusión	0	2	-1	0.50	0.33	0.36
Módulo de elasticidad	1	-1	-2	0.33	0.00	0.05
Energía	1	2	-2	1.33	1.00	1.05
Débito	0	3	-1	0.83	0.66	0.69
Fuerza	1	1	-2	1.00	0.66	0.72
Frecuencia	0	0	-1	-0.16	-0.33	-0.31
Longitud	0	1	0	0.33	0.33	0.33
Momento de fuerza	1	2	-2	1.33	1.00	1.05
Momento de inercia	1	2	0	1.66	1.66	1.66
Fuerza viva	1	1	-1	1.16	1.00	1.02
Período	0	0	1	1.16	0.33	0.31
Potencia	1	2	-3	1.16	-0.66	0.735
Presión	1	-1	-2	0.33	0.00	0.05
Resistencia periférica	1	-4	-1	-0.50	0.66	-0.64
Velocidad	0	1	-1	0.16	0.00	0.023
Tensión superficial	1	0	-2	0.66	0.33	0.38
Viscosidad	1	-1	-1	0.50	0.33	0.36
Volumen	0	3	0	1.00	1.00	1.00
Trabajo	1	2	-2	1.33	1.00	1.04

Es interesante señalar que ya en 1888 v. Hoesslin (1) trató de aplicar los principios de la similitud mecánica a los seres vivos, y que en 1927 Lambert y Teissier (2) formularon una teoría de "similitud biológica", basados en la hipótesis que para los sistemas biológicos el exponente $\frac{1}{3}$ de la fórmula de reducción de Newton $\lambda^{\frac{1}{3}} \alpha + \beta + \gamma^{\frac{1}{3}}$ debería ser reemplazado simplemente por γ , quedando entonces un coeficiente de reducción $\lambda^{\frac{1}{3}} \alpha + \beta + \gamma$. Este último factor resulta ser igual al que se puede deducir de la regla de similitud electrodinámica; pero tal como se ha podido demostrar en el presente trabajo, la similitud biológica no es ni mecánica ni electrodinámica, sino que en este caso es necesario aplicar ambas a la vez.

El principio de la similitud biológica, en relación con el problema de la vinculación entre el peso corporal y la intensidad metabólica, así como con numerosas otras funciones fisiológicas, será motivo de publicaciones ulteriores.

RESUMEN

En base a las reglas de similitud de la mecánica y de la electrodinámica se analizaron los fundamentos teóricos de las similitudes biológicas, cuya expresión matemática queda comprendida entre ambas similitudes físicas.

De acuerdo con esta teoría de similitud biológica es posible calcular la variación de numerosas funciones fisiológicas en relación al peso corporal.

SUMMARY

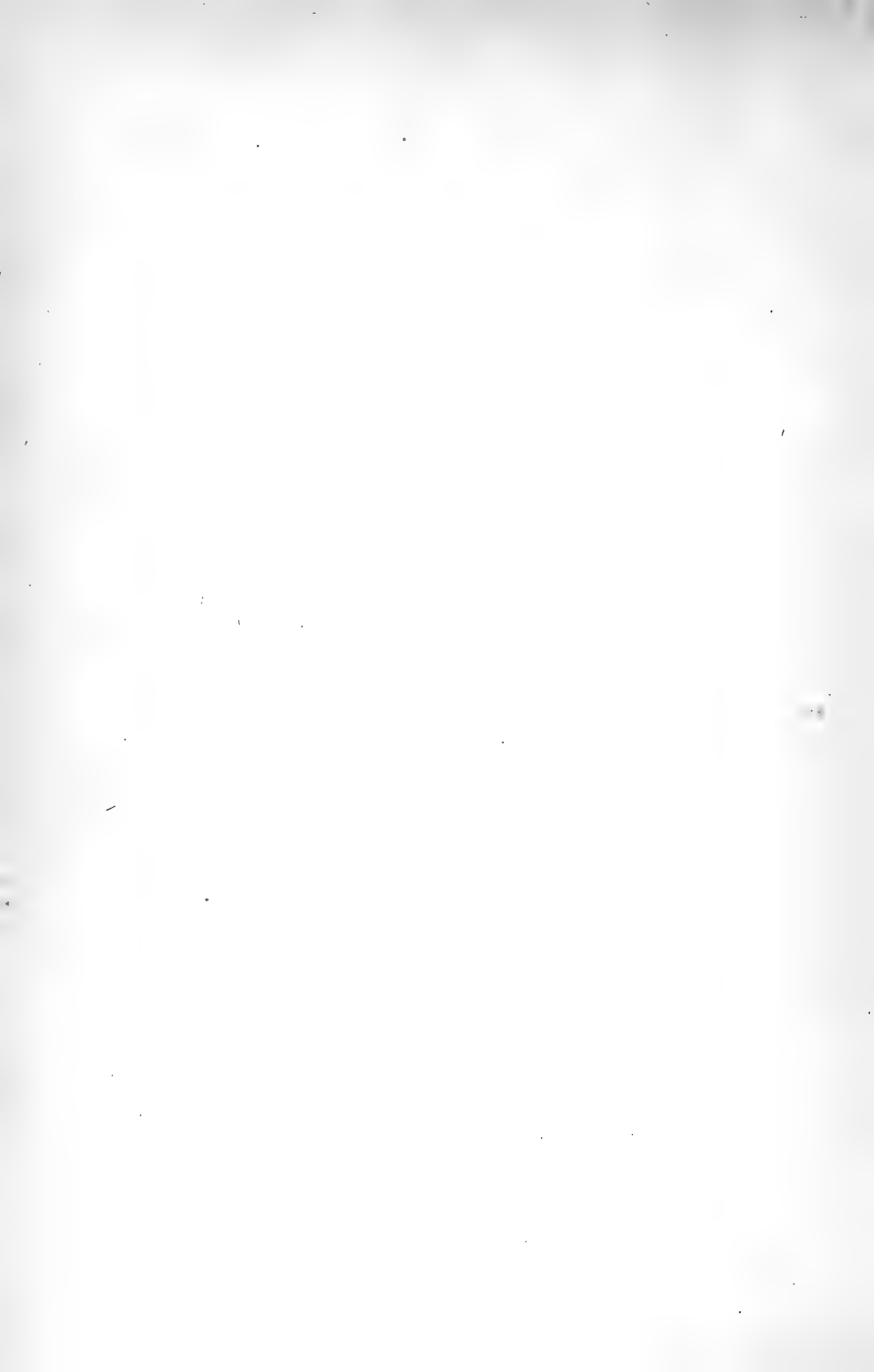
The theoretical basis of biological similitude is analyzed in relation to the rules of mechanical and electrodynamic similarities.

A reduction formula is obtained for biological similarities, whose exponent lies between the values of those of the physical reduction formulas.

Utilizing the equation of biological similarity it has been possible to predict the variations of several physiological functions in relation to body weight.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Hoesslin, H. v.—Ueber die Ursache der scheinbaren Abhängigkeit des Umsatzes von der Grösse der Körperoberfläche, Du Bois-Reymond's Arch., (1888), p. 323.
- 2.—Lambert, R., Teissier, G.—Theorie de la similitude biologique, Ann. de Physiol., 3:212, 1927.



Experiencias en *Haplochromis multicolor* Hilgendorf 1903 relativos a las reacciones de la prole neomética

con 6 fotos

por

Leo Overdick - Erdmann

Del Dr. rer. nat. Hans Ullrich Baensch K., de "TROPEN-HAUS Gehrden, Hannover (Alemania), obtuvimos a principio del año pasado por vía aérea un par de *Haplochromis multicolor* Hilgendorf 1903. Estos fueron los únicos sobrevivientes de una partida de unos doscientos diferentes peces. Después de tres meses obtuvimos la primera reproducción, la cual, igualmente como la segunda y tercera perecieron por deficiencias de orden material en el Instituto, por la cual tuvimos que conformarnos con el único para importado que sobrevivió.

Gracias a la amabilidad del señor capellán del ejército en Santiago de Chile, señor Héctor Ahumada R., el más conocido y competente criador de peces de acuario en Chile, ha podido el Instituto, conseguir últimamente dos ejemplares más de los muy escasos e interesantes *H. multicolor*, para poder proseguir sus investigaciones.

El lugar de origen de estos peces es la zona Este de Africa, del Sudán hasta el río Nilo. Su longitud es de unos 7 - 8 cm. y la cabeza es la cuarta parte del total. Los ojos son móviles, con una cinta obscura colocada verticalmente. El cuerpo reluce con todos los colores. Detrás del opérculo se encuentra una mancha circular de centro oscuro y borde de rojo intenso. La aleta dorsal tiene en su superficie de implantación, una serie de puntos verde claro seguidos de una banda uniforme de color sepia. Sigue a ésta nuevamente una línea de puntos verde, hasta terminar en su parte posterior con una banda casi color café. La aleta anal, que se encuentra ubicada muy al extremo posterior, tiene los colores de la aleta dorsal, y termina en una mancha roja intensa. La ♀ presenta los mismos colores, pero en una forma más difusa.

En un acuario con *Sagittaria platyphylla*, *Vallisneria spiralis*, *Cabomba carolineana* y *Cryptocoryne griffithii*, de una capacidad de 120 lt., conteniendo agua de llave sin cloro un 50%, y el resto agua de lluvia, colocamos los peces para su reproducción. La dureza del agua era 10° dH (dH = deutsche Härte; medida alemana) y el valor de pH: igual a 7. La temperatura se mantuvo constante a 25°C (Celsius) durante el día, y en la noche a 23°C, mientras transcurría el período de incubación.

Se alimentó con *Lumbricus communis*, *Daphnia pulex*, *Gammarus pulex*, *Enchytraeus ventriculosus* y *Tubifex rivulorum*, hasta el día del desove. Durante este tiempo fueron también alimentados con Quaker cocido, que fue mezclado por partes iguales con *Pyure chilensis molina*, bien secado y pulverizado.

Análisis de *P. chilensis*. *

Materias minerales totales (Cenizas)	4.96
Vitamina 'C	+
Vitamina 'B	++
Fosfatos, exp. en P_2O_5	0.306
Fierro, exp. en Fe_2O_3	0.011
Cloruros, exp. en $ClNa$	3.102
Magnesio, exp. en MgO	0.446
Calcio, exp. en CaO	0.401
Lecitinas	4.44
Prótidos	81.199
Extracto etéreo (Lípidos)	7.42

A cada cucharada de esta mezcla de Quaker y *P. chilensis*, bien llena, se le agregó las siguientes vitaminas:

Vogan —	(Vitamina 'A)	5 gotas
Vigantol —	(Vitamina 'B)	10 gotas
Cebión —	(Vitamina 'C)	1 tableta pulverizada
Levadura en polvo (CC. UU.)		0.5 g
Aceite de hígado de bacalao		15 gotas

* Hecho por el Laboratorio de Química Analítica y Bromatología, Escuela de Farmacia, Universidad de Concepción. Memoria: Luisa Saelzer Sepúlveda (1937).

Durante el período de incubación, la ♀ no toma alimento, y ya que el ♂ después de la incubación es alejado de la ♀ y del acuario, no es necesario echar alimento dentro de él, hasta que nazcan los pecesitos. Estos últimos fueron alimentados con *Artemia salina* y *Anguilla silusiae*.

Después de estar pocos días en el acuario, con agua muy cristalina, comienza el celo. El ♂ se acerca a la ♀ en diferentes posiciones; los movimientos son típicos y llama mucho la atención la intensidad de los colores de ambos. La ♀ se mantiene fielmente en la cercanía del ♂, y lo sigue a todos los lugares del acuario. El ♂ con la aleta caudal y con movimientos circulares, cava un hoyuelo y aleja las posibles arenillas u otros obstáculos con la boca. El ♂ se mantiene luego sobre la excavación y pretende a la ♀; así este se acerca y toca con la boca suavemente la papila urogenital. El choque provoca en forma refleja otro movimiento; el ♂ se coloca bajo la ♀, pasando a rozar con la boca el vientre. La cabeza del ♂ está en este momento aumentada de tamaño en todo sentido.

Ahora comienzan a nadar en círculos, de tal manera, que el ♂ se mantiene continuamente con la boca en la papila urogenital de la ♀. Finalmente la ♀ se detiene y deposita una hilera de huevos, 6 - 12. Los huevos se independizan de la cinta que los unía y el ♂ se acerca moviéndose en forma convulsiva y los fecunda. Parece que la ♀ esperaba sólo este momento, ya que inmediatamente los introduce en su boca y busca en el fondo algunos huevos posiblemente extraviados.

Esta forma descrita, se repite después de unos minutos, hasta que la ♀ tiene la bolsa gular totalmente llena. En seguida, la ♀ se aleja del ♂, siendo este el momento en que se debe alejar a este último del acuario, ya que, en caso contrario, el ♂ sigue persiguiendo a la ♀ y ésta por defenderse, puede deglutir los huevos.

Durante el tiempo que sigue, es digno de observar, como la bolsa gular aumenta día a día. Por desplazamientos de la mandíbula, la ♀ mantiene en movimiento los huevos. Después de unos 15 días, los pecesitos que han alcanzado un tamaño de 7 - 8 mm., abandonan por primera vez la bolsa gular. La cantidad de pecesillos puede ser de unos 40 - 60 (en caso extremo 15 - 100). En el momento de aparecer en la ♀ el instinto de cazar, ya abandonado el de cuidar la prole, debe también alejársela, ya que puede perseguir a la propia prole y comérsela. Cuatro o cinco días después que los pecesitos han salido de la bolsa gular es el momento oportuno para proceder al alejamiento de la ♀.

Durante estos primeros cuatro o cinco días, pueden hacerse interesantes experimentos en la especie *H. multicolor*. En caso de peligro, nadan todos los pecesitos hacia la ♀ para buscar abrigo en la gran bolsa gular (ver figura: C y F). Para provocar este efecto basta con tocar suavemente el vidrio del acuario, o un pequeño movimiento del observador frente a él. La cría se mantiene en la bolsa gular también durante la noche. Corrientemente se abalanzan los peces, en caso de peligro, desde

todos los lados a la boca de la ♀; pueden hacerlo también en forma lenta, de manera que, la ♀ debe nadar para atrapar a cada uno de ellos. Esta particularidad no parece tener su origen en las crías, ya que no reaccionan a los estímulos, aunque estos sean muy fuertes, sino que sólo en el momento en que la ♀ comienza a introducirlos en la boca o, en caso contrario, hace algunas señas desconocidas para nuestros ojos. Sólo así, rápidamente se introducen en la bolsa gutural.

Nosotros tratamos de averiguar la razón de tan interesante reacción. Para este objeto, colocamos los peces en acuarios de laboratorio que sean totalmente de vidrio y de una dimensión de 15 x 18 x 10 cm., los cuales colgamos dentro del acuario grande. La ♀ nadaba inmediatamente hacia los peces nuevos y buscaba en vano pasar por el vidrio, como, igualmente, los otros trataban de refugiarse en la bolsa gutural en este momento de peligro. Después de esto, es de pensar que el sentido de la vista desencadena esta reacción. Algún movimiento de la ♀ casi no puede ser, pues los pequeños, con artefactos artificiales (imitaciones de pez adulto con pasta de moldear), también reaccionan.

Para sentar un mayor precedente, fabricamos cuatro imitaciones de pasta amarilla (ver figura N° 1, 2, 3 y 4), y los colocamos delante de los diferentes pequeños acuarios, conteniendo los pecesitos y moviéndolos aproximadamente durante un minuto. La forma de imitación N° 1 se asemejaba a la ♀. Para simular los ojos se pusieron esferas de vidrio. Las otras imitaciones se alejaban visiblemente de la forma primitiva. Al mover estas imitaciones, pudimos comprobar que los pecesito se reunían delante de ellos y trataban de penetrar. El modelo N° 1 dió los mejores resultados, lo seguían el N° 2, 3 y 4 en el orden indicado. Es de notar que el N° 4 casi no provocaba reacción; varía de demasiado de la imitación N° 1. A continuación colocamos las cuatro imitaciones al mismo tiempo delante de los pequeños, para observar el poder de elección. El resultado era el mismo indicado ya, en la sucesión de los números.

Continuamos los experimentos dando a las imitaciones diferentes ubicaciones de los ojos, como el N° 5, 6, 7 y 8. La forma es la misma como el N° 1 y 2 de la figura F, solamente los ojos se colocaron en posiciones distintas. También aquí los resultados fueron los mismos, que con los ojos en posición normal.

Estas pruebas se hicieron con peces normalmente nacidos, la primera vez. Los resultados fueron los mismos al usar peces que fueron sacados de la bolsa gutural al estado de huevo y que crecieron sin cuidado de la ♀. Con esto queda demostrado, que los peces jóvenes, que nunca antes vieron un pez adulto, tenían suficiente instinto y conocimientos, para reaccionar en la misma forma que los nacidos normalmente. Es como si respondieran a una lengua que nunca aprendieron.

Por la extracción de los huevos de la bolsa gutural, con el fin de separarlos y efectuar el experimento anterior, quedaba un pequeño espacio vacío en la bolsa gutural, y ya que el día del nacimiento de una postura de Nannacara anómala Regan 1905, más o menos coincidía con el H. multicolor, colocamos (8)

ocho huevos de esta postura distinta, de un día y medio, con una pipeta en la bolsa gutural de la ♀, *H. multicolor*. Si éstos llegaban a su madurez antes o después que los propios chicos, no nos fue posible comprobar. En este sentido, sólo pudimos observar que los peces de *N. anómala* (4 ejemplares) nadaban más tarde, juntos con los otros en el acuario y también eran recibidos en la bolsa gutural de la ♀ en caso de peligro.

Ya que, existe muy poco material de peces a nuestra disposición, en especial de la familia CICHLIDAE, no pudimos hacer otros experimentos con el *H. multicolor*, condicionado también ésto, con la falta de elementos necesarios para esta clase de experimentos en el Instituto.

En la especie *H. multicolor* existe la particularidad de introducir la prole, en caso de peligro, en la boca, en la misma forma que lo hacen algunas especies de las siguientes familias: Cichlidae, Anabantidae, Osteoglossidae, Serranidae, Cheilodipteridae, Trachinidae y hasta los Poeciliidae crían su prole en la bolsa gutural. Entre éstos hay también algunos, en que el ♂ cría la prole, tal como entre los anfibios la *Rhinoderma darwini* Dum et Bibr.

RESUMEN

La particularidad de mantener las crías en la bolsa gutural, no se observa sólo en *Haplochromis multicolor* Hilgendorf 1903, sino que también es propio de otras familias, en el orden numeroso y grandemente extendido de Cichlidae.

Notable es la reacción de la prole de los *H. multicolor* frente a las imitaciones, (de diferentes formas artificiales) de una ♀ y en especial la facilidad con que la ♀ de *H. multicolor* recibe también los huevos de *Nannacara anómala* Regan 1905, introducidos en forma artificial en la bolsa gutural, para incubarlos junto con sus propios huevos y más tarde cuidarlos. Es interesante el hecho que los pequeños *N. anómala* junto con las crías de *H. multicolor*, reaccionen en la misma forma ante el peligro y se refugian en la bolsa gutural de la ♀.

SUMMARY

The particularity of maintainig their infant in their guttural sack ist not only observed in the *Haplochromis multicolor* Hilgendorf 1903, but is also a characteristic of other kind in this group, specially in the Cichlidae. There are others species that often take their infants in their mouth.

Remarkable is the reaction of the infants of the *H. multicolor* in front of the imitations (of diferent forms) of a ♀, and specially with the ♀ of *H. multicolor* receives the eggs of *Nannacara anomala* Regan 1905 artificialy introduced in the guttural sack, to incubate them together with their own, looking after them later. It is an interesting fact that the young *N. anomala* together with the young *H. multicolor* react in the same way in from of danger and run to the guttural sack of the ♀.

ZUSAMMENFASSUNG:

Die Aufnahme der Eier, bezw. Jungen im Kehlsack ist eine Erscheinung die man nicht allein bei *Haplochromis multicolor* Hilgendorf 1903 beobachtet, sondern auch bei vielen andern Familien der grossen, weitverbreiteten Gattung der Cichliden. Auch bei den Anabantiden, Cheilodipteriden, Osteoglossiden, Poeciliiden, Serraniden und Trachiniden werden die Jungen vielfach ins Maul genommen.

Bemerkenswert ist die Reaktion der Jungen von *H. multicolor* auf Atrappen der verschiedensten Form und die Bereitschaft des ♀, Eier von *Nannacara anomala* Regan 1905, künstlich in den Kehlsack eingeführt, zusammen mit den eigenen Eiern auszubrüten und später nach dem Ausschlüpfen zu betreuen. Interessant ist die Tatsache, die Jungen von *N. anomala* (im Schwarm mit den Jungen *H. multicolor*) in der gleichen Form wie diese bei Gefahr reagieren und ins Maul des ♀ von *H. multicolor* fliehen zu sehen.

BIBLIOGRAFIA

- Arnold, Joh. Paul.—Alphabetisches Verzeichnis fremdländischer Süsswasserfische, Reihe D. Band 1-2. Gustav Wenzel & Sohn - Braunschweig.
- Breider, Hans.—Die Gesetze der Vererbung und Züchtung in Versuchen mit Aquarienfischen. Gustav Wenzel & Sohn-Braunschweig, 1938.
- Geyer, Hans.—Praktische Futterkunde für Aquarianer und Terrarianer. Julius E. G. Wegner - Stuttgart, 1929.
- Heller, Carl.—Das Süsswasseraquarium. Quelle & Meyer - Leipzig.
- Het Aquarium.—Maandblad voor Aquarium-Terrarium en Insectariumkunde. Officieel Orgaan van de NBAT. Den Haag - Huygenspark, N° 45b.
- Ladiges, Werner. — Beiträge zur Oekologie der Süsswasserfische. Wochenschrift für Aquarien-u. Terrarienkunde. Gustav Wenzel & Sohn - Braunschweig, 1938.
- Lederer, Gustav.—Zur Bodengrundfrage in Süsswasseraquarien. Gustav Wenzel & Sohn - Braunschweig, 1949.
- Innes, William T.—Exotic Aquarium Fishes. Innes Publishing Co. Philadelphia, 1949.
- Nonidez, José F.—La herencia Mendeliana. S. Aguirre, Madrid, 1935.
- Peters, Hans.—Untersuchungen über die Brutpflege maulbrütender Cichliden. Wochenschrift für Aquarien-u. Terrarienkunde. Gustav Wenzel & Sohn - Braunschweig, 1937.
- Schwabe, G. H.—Ueber Mariscos und Mariscofischerei. Zeitschrift für Fischerei und Hilfswissenschaften. Band XXXIX, Heft 3, 1941. J. Neumann - Neudamm.
- Tusche & Nachstedt.—Züchterkniffe. Band 3. Alfred Kernen, Stuttgart, 1952.
- Wilhelm, O.—Die Neomelia der *Rhinoderma darwinii* B. et D. XI. Congresso Internazionale de Zoologia. Padua, 1930. Atti. Vol. 1.
- Wilhelm, O.—Nuevas observaciones acerca de la Neomelia de la *Rhinoderma darwinii* B. et D. Revista Chilena de Historia Natural, 1932.

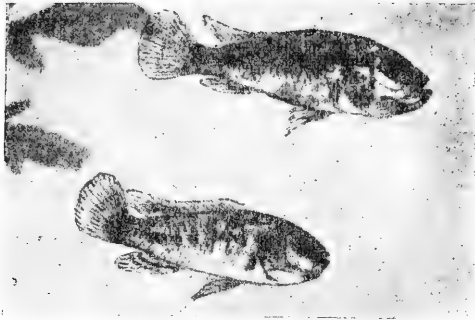


FIGURA "A"
Haplochromis multicolor Hilgendorf 1903.
 arriba: ♀
 abajo: ♂ antes del desove.

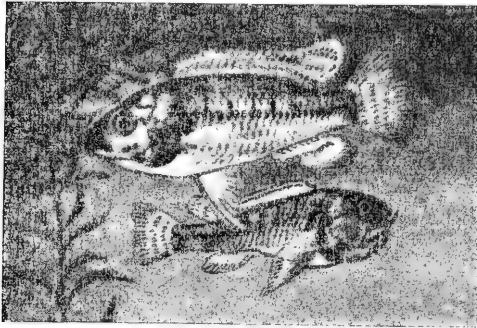


FIGURA "B"
Haplochromis multicolor Hilgendorf 1903.
 arriba: ♂
 abajo: ♀ después del desove.



FIGURA "C"
Haplochromis multicolor Hilgendorf 1903
 la ♀ solo con su prole.

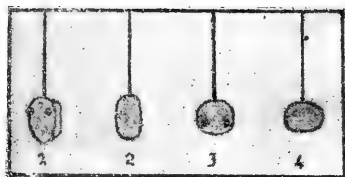


FIGURA "D"
 Imitaciones de *Haplochromis multicolor*
 Hilgendorf 1903.



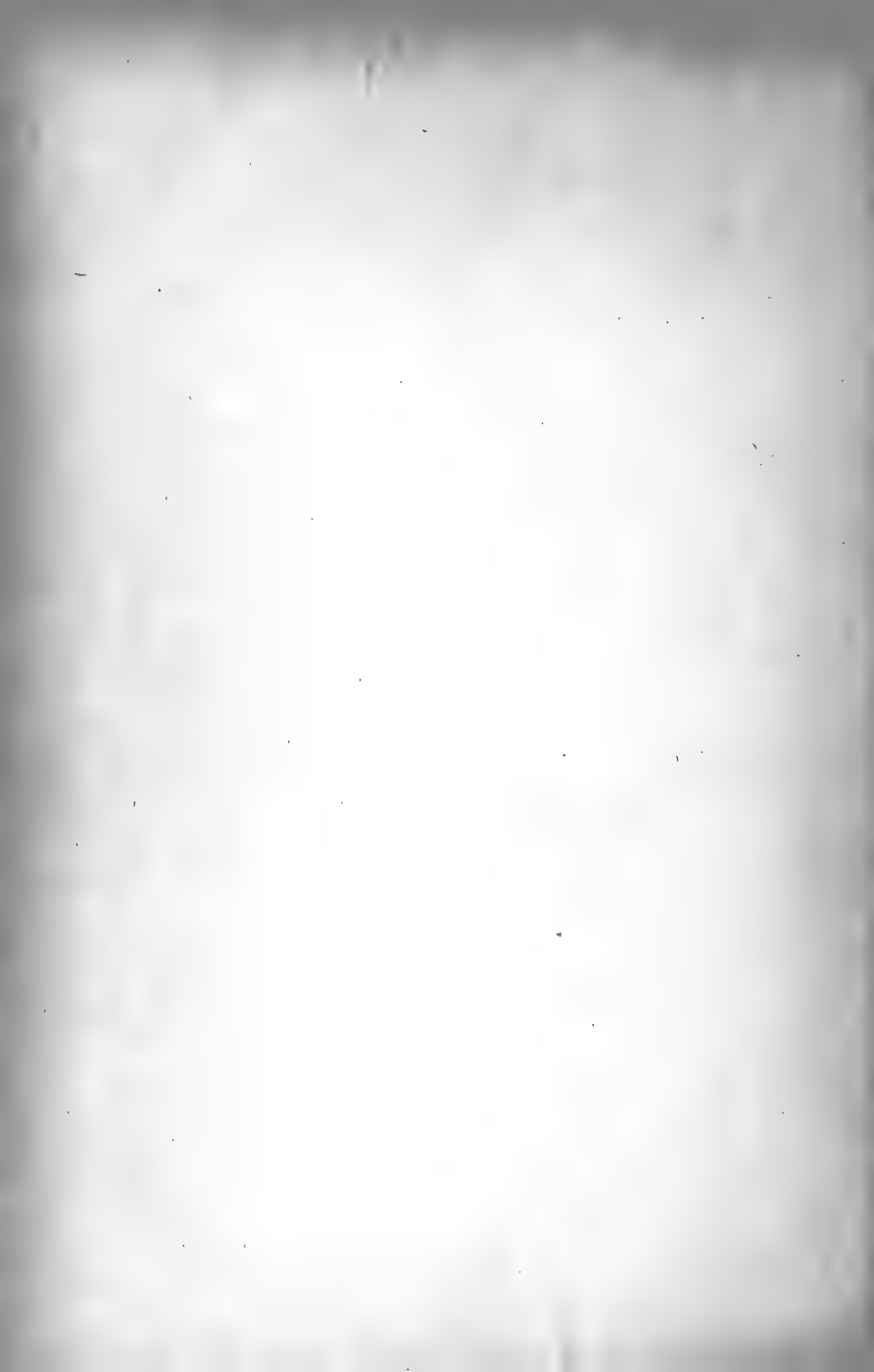
FIGURA "E"
 Imitaciones de *Haplochromis multicolor*
 Hilgendorf 1903.



FIGURA "F"
 Imitación de *Haplochromis multicolor*
 Hilgendorf 1903.

INDICE:

	Pág.
de Tschischow, N. T.—Estudios citológicos en <i>Lapageria Rosea</i> Ruiz et Pav.	3
de Tschischow, N. T.—Alteraciones morfológicas en los cromosomas de <i>Vicia Faba</i> y <i>Pisum Sativum</i> , provocadas por la eserina, salicilato de eserina, ácido salicílico y salicilato de sodio	7
Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Reveco, G. A., Muñoz, L. A., Contreras, M. E.—Influencia de algunos factores sobre la destrucción enzimática de la procaina y acetilcolina	19
Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Reveco, A. G., Yáñez, F. M.—Relaciones entre el poder colinoesterásico y procainol-esterásico del suero humano en presencia de inhibidores reversibles	27
Lecannelier, R. S., Bardisa, U. L., Tamayo, R. L., Gamé, G. I., Reyes, R. R.—Factores que influyen la acción analgésica de la morfina y derivados fármacos simpaticomiméticos, simpaticolíticos y parasimpaticomiméticos . .	39
Reveco, A. G., Lecannelier, R. S., Bardisa, L. U., Merino, C. J.—Hidrolisis de la procaina por la encía humana	49
Guenther, B., Micco, E.—Metabolismo de algunos anfibios en función del peso corporal	57
I. Eskuche, Abarca, F., Salvatore, F., Tohá, J., Hodgson, G.—Efectos eritropoyéticos de leche de vaca	73
Abarca, F., Eskuche, I., Salvatore, F., Tohá, J., Hodgson, G.—Estudio del efecto eritropoyético de sangre de vacuno incubada a baja tensión de oxígeno	77
Guerra, E., Günther, B.—Similitud mecánica y electrodinámica en Biología	87
Overdick-Erdmann, L.—Experiencias en 'Haplochromis Multicolor Hilgendorf 1903' relativos a las reacciones de la prole neomélica	93



**BOLETIN DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGIA
DE CONCEPCION (CHILE)**

Bol. Soc. Biol Concepción (Chile)

C A N J E

Deseamos establecer **Canje** con todas
las Revistas similares.

We wish to establish **exchange**
with all similar Reviews.

Wir wünschen den **Autausch** mit
allen ähnlichen Zeitschriften.

On désire établir l'**échange** avec toutes
les Revues similaires.

Dirigir correspondencia al BIBLIOTECARIO

Prof. Dr. Carlos Henckel, Concepción (Chile), Casilla 29



SMITHSONIAN INSTITUTION LIBRARIES



3 9088 01221 1934